

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ADYAMAN POPÜLASYONUNDA IL-6 -174 G/C POLİMORFİZMİ İLE
KORONER ARTER HASTALIĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

YUNUS KÜÇÜKKAYA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2017

**T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ADİYAMAN POPÜLASYONUNDA IL-6 -174 G/C POLİMORFİZMİ İLE
KORONER ARTER HASTALIĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yunus KÜÇÜKKAYA

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez 19/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

**Doç.Dr. Yusuf SEVGİLER
BAŞKAN (DANIŞMAN)**

**Doç.Dr. Süleyman BAYRAM
ÜYE**

**Doç.Dr. Mustafa COŞKUN
ÜYE**

**Doç.Dr. Ahmet GENÇ
ÜYE**

**Yrd.Doç.Dr. Mehmet ARSLAN
ÜYE**

**Prof.Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No:FEFYL/2012-0010

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ADİYAMAN POPÜLASYONUNDA IL-6 -174 G/C POLİMORFİZMİ İLE KORONER ARTER HASTALIĞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Yunus KÜÇÜKKAYA

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç.Dr. Yusuf SEVGİLER
2.Danışman : Yrd.Doç.Dr. Meral URHAN KÜÇÜK
Yıl: 2017, Sayfa sayısı: 36

Jüri: : Doç.Dr. Yusuf SEVGİLER
: Doç.Dr. Süleyman BAYRAM
: Doç.Dr. Mustafa COŞKUN
: Doç.Dr. Ahmet GENÇ
: Yrd.Doç.Dr. Mehmet ARSLAN

Çalışmamızın amacı Adıyaman iline ait popülasyonda koroner arter hastalığı olan bireylerde, IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda, hasta ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinden ayrıştırılan DNA, PCR ve elektroforetik yöntemlerle analiz edilmiştir. Araştırma sonuçlarımıza göre koroner arter hastalığı ile IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Gen polimorfizminin görülme sıklığı farklı etnik gruplarda farklılık göstermektedir. KAH oluşumunda IL-6 -174 G/C gen polimorfizminin rolünün daha iyi anlaşılması için etnik köken dikkate alınarak çalışmaların bu yönde yapılmasının daha uygun olacağı öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnterlökin-6 (IL-6), -174 G/C gen polimorfizmi, koroner arter hastalığı (KAH), ateroskleroz

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION of the RELATIONSHIP BETWEEN IL-6 -174 G/C POLYMORPHISM and CORONARY ARTERY DISEASE in ADIYAMAN POPULATION

Yunus KÜÇÜKKAYA

Adiyaman University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Assoc.Prof.Dr. Yusuf SEVGİLER
2.Supervisor : Assist.Prof.Dr. Meral URHAN KÜÇÜK
Year: 2017; Number of pages: 36

Jury: : Assoc.Prof.Dr. Yusuf SEVGİLER
: Assoc.Prof.Dr. Süleyman BAYRAM
: Assoc.Prof.Dr. Mustafa COŞKUN
: Assoc.Prof.Dr. Ahmet GENÇ
: Assist.Prof.Dr. Mehmet ARSLAN

The aim of the present study is to investigate the relationship between coronary artery disease (CAD) and IL-6 gene -174 G/C polymorphism in coronary artery patients who live in Adiyaman City, Turkey. With this aim, we isolated the DNA from healthy and patient people's blood and -174 G/C polymorphism was analysed by using polymerase chain reaction (PCR) and electrophoretic techniques. According to our results, there is a significant relation between coronary artery disease and -174 G/C polymorphism in patients who live in Adiyaman City, Turkey. Incidence of -174 G/C gene polymorphisms may vary between different ethnic groups. Further studies should be conducted with different ethnic groups to understand the role of IL-6 -174G/C polymorphism in CAD progress.

Key Words: Interleukin-6 (IL-6), -174 G/C gene polymorphism, coronary artery disease (CAD), atherosclerosis

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
1.GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	9
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1.Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması.....	14
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	14
3.2.1. Kullanılan aletler ve cihazlar.....	14
3.2.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	15
3.2.3. Kullanılan çözeltiler.....	16
3.3. Yöntem.....	18
3.3.1. DNA izolasyon.....	18
3.3.2. Moleküler analiz.....	19
3.3.2.1. IL-6 gen varyantlarının belirlenmesi.....	19
3.3.3. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.....	21
4.BULGULAR.....	22
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	24
KAYNAKLAR.....	27
ÖZGEÇMİŞ.....	35

Çizelge 4.1. Gruplar arasında kişisel özelliklerin karşılaştırılması	22
Çizelge 4.2. KAH ve kontrol gruplarında IL-6 -174 G/C polimorfizmi genotip ve alel dağılımları	23



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. İnflamatuvar sürecin nedenleri.....	3
Şekil 1.2. IL-6 ve kardiyovasküler olgu arasındaki ilişki.....	4
Şekil 3.1. IL-6 -174 G/C polimorfizmi agaroz jel görüntüsü.....	20



SİMGELER VE KISALTMALAR

AnTn	: Adenin Timin Bölgesi
BOS	: Bronşiyolitis Obliterans Sendromu
C	: Santigrat
CRP	: C-reaktif Protein
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNAaz	: Deoksiribonükleaz
dNTP	: Deoksiribonükleotid Tri Fosfat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ET-1	: Endotelin 1
EtBr	: Etidyum Bromür
F	: Primer F
g	: Gram
GP-130	: Glikoprotein 130
HCl	: Hidroklorik Asit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
JAK	: Janus Kinaz
KABG	: Koroner Arter Baypass Greft
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar
L	: Litre
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LURIC	: Ludwigshafen Risk Kalp ve Damar Sağlığı
M	: Molarite

μg	: Mikrogram
mg	: Miligram
MgCl_2	: Magnezyum Klorür
MCP-1	: Monosit Kemotaktik Peptid-1
MedCalc	: Medikal Hesap Makinesi İstatistik Programı
MI	: Miyokardiyal Enfaktüsü
mL	: Mililitre
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
NaCl	: Sodyum Klorür
NaClO_4	: Sodyum Perklorat
Na_2EDTA	: Sodyum Etilendiamin Tetra Asetik Asit
NlaIII	: <i>Neisseria lactamica</i> Restriksiyon Enzimi
NO	: Nitrik Oksit
nNOS	: Nöral Nitrik Oksit Sentaz
P	: Olasılık Oranı
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör Önleyici 1
PCR	: Polimeraz Zincir Tepkimesi
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
R	: Primer R
Rpm	: Dakikada Devir Sayısı
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
sGP-130	: Çözünebilir Glikoprotein 130
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TBE	: Tris-Borat-EDTA Tamponu
TE	: Tris-EDTA Tamponu
TEKHARF	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri
$\text{TNF } \alpha$	: Tümör Nekroz Faktör alfa
TNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
Tris-HCl	: Tris- Hidroklorik Asit
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

U : Ünite
V : Volt



1.GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklardan (KVH) kaynaklı ölümler dünyadaki ölümler arasında birinci sıradadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre 2012 yılında tüm küresel ölümlerin %31'ini oluşturan 17.5 milyon kişinin KVH'den dolayı öldüğü tahmin edilmiştir. KVH kaynaklı ölümlerin dörtte üçü, düşük ve orta gelirli ülkelerde gerçekleşmiştir (Anonim2 2016).

KVH Amerika Birleşik Devletleri'nde önde gelen ölüm nedeni olup tüm ölümlerin 2.9'da 1'ini oluşturmaktadır. Bu ölümlerin 6'da 1'i koroner kalp hastalığından (KKH) kaynaklanmaktadır. Şu anda Amerika'da 83.6 milyondan fazla KVH'li birey vardır ve bu hastaların 1 yılda kamuya maliyetinin 300 milyar dolar civarında olduğu tahmin edilmektedir (Anderson vd. 2013, Teixeira vd. 2014).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2014 verilerine göre ölüm nedenleri incelendiğinde ülkemizde birinci sırada bulunan dolaşım sistemi hastalıklarından kaynaklı ölümler 2013 yılında %39.6 iken bu oran 2014 yılında %40.4'ü bulmuştur. Dolaşım sistemi hastalıkları nedeniyle gerçekleşen ölümlerin 2014 yılında %39.6'sı iskemik kalp hastalığından, %24.7'si ise serebrovasküler hastalıktan kaynaklanmıştır (Anonim1 2015).

Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasının 2013 takip taramasında saptanan cinsiyete özgü ve belirli yaş kesimindeki genel mortalite ve koroner mortalitesinin analizi yapılmıştır. Ülkemizde 45-74 yaş kesimindeki tüm nedenli mortalite dikkate alınınca, ölüm oranı erkekte yılda binde 16.8, kadında binde 9.9 olarak saptanmıştır ve son üç yılda bir stabilizasyon vardır. Otuz Avrupa ülkesindeki 45-74 yaş kesiminde ortalama ölüm oranı erkekte yılda binde 13.2, kadında ise binde 7.3 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, bizde buna karşılık gelen oranlar hala %30 kadar yüksektir (Onat vd. 2013).

Koroner arter hastalığı (KAH), çeşitli genler, çevresel faktörler ve bunların etkileşimi tarafından belirlenen kompleks bir multifaktöriyel hastalıktır ve en sık görülen kalp hastalığıdır (Gündoğdu vd. 2007, Yin vd. 2012, Elsaid vd. 2014).

KAH önceleri bir lipid depolama hastalığı olarak kabul edilmesine karşın daha sonra aterogenezin oluşumunda inflamasyon, hücrel ve moleküler mekanizmaların rolü olduğu açığa çıkmıştır (Galimudi vd. 2013, Anderson vd. 2013).

Çeşitli çalışmalar, ateroskleroz lezyonlarında, kronik inflamasyonun kritik rol oynadığını göstermektedir (Ross 1999, Becker vd. 2001, Humphries vd. 2001, Bennarmo vd. 2004, Gündoğdu vd. 2007, Tonet vd. 2008, Rios vd. 2010, Yin vd. 2013, Teixeira vd. 2014).

Bu çalışmalar KKH'nın yalnızca dejeneratif bir hastalık olmadığını ancak kronik inflamatuvar sürecin birçok özelliklerini taşıdığını bildirmişlerdir. Bu durum inflamatuvar sitokinler gibi inflamatuvar araçları kodlayan genlerdeki genetik varyasyonların koroner kalp hastalığı gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Libby vd. 2000, Humphries vd. 2001, Hansson vd. 2005, Yin vd. 2012).

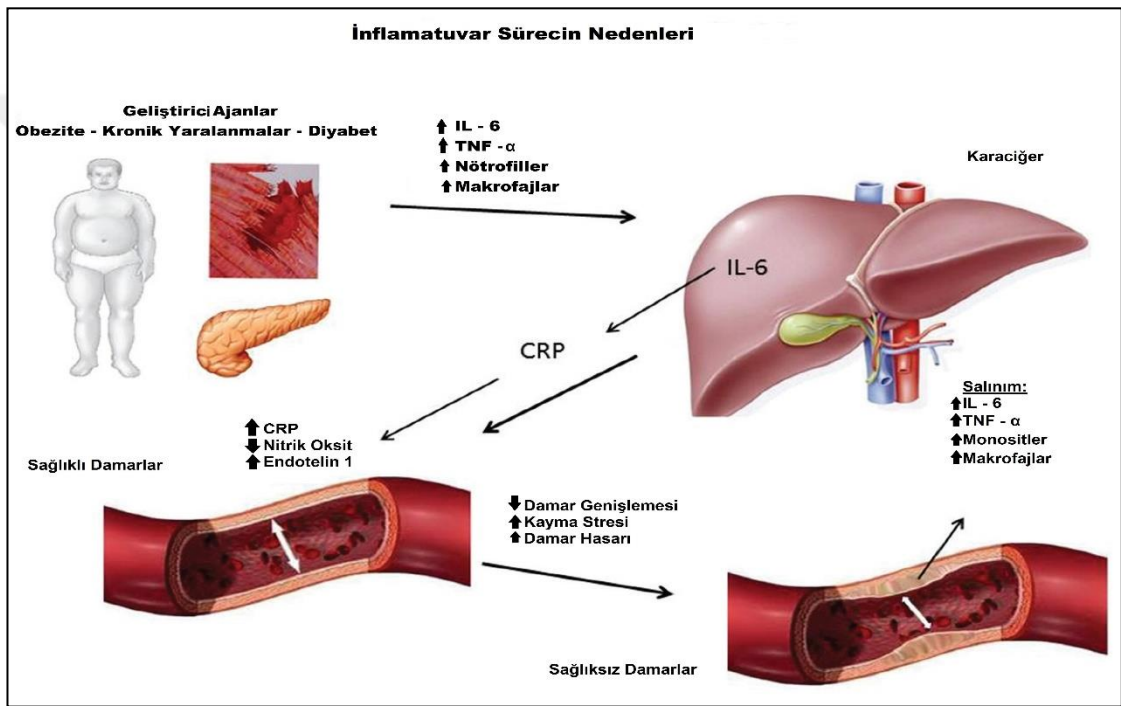
İmmünolojik süreç, endotel işlevsizliğine neden olarak miyokard enfarktüs (MI) ve trombüs oluşumu gibi akut koroner sendromlardaki plak oluşumunda hayati bir rol oynar (Sie vd. 2006, Galimudi vd. 2013, Teixeira vd. 2014).

Endotel işlevsizliğinin en önemli özelliği, endotele bağımlı damar genişlemesi üzerine zararlı etkisinin olmasıdır. Bu da nitrik oksit (NO) sentez ve üretimi arasında bir dengesizliğin sonucudur. Bozulmamış vasküler duvarlarında, güçlü bir damar genişletici olan NO, endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) tarafından sentezlenir. Aterosklerozlu kan damarları, iki nitrik oksit sentaz (NOS) izoformu üretilmesine katkıda bulunur. Bunlar nöronal NOS (nNOS) ve indüklenabilir NOS (iNOS) olup ikiside proinflamatuvar sitokinler tarafından tetiklenir. NOS vasıtasıyla kofaktör tetrahidrobiopterin eksikliğinde, amino asit L-arjinin (enzim substratı) NO'dan büyük miktarlarda süperoksit üretebilir. Bu durum NOS ayrıştırma olarak bilinir. NO süperoksit ile birlikte, tetrahidrobiopterin oksidasyona neden olan peroksinitriti oluşturabilirler. Peroksinitrit, eNOS için kritik bir kofaktördür (Teixeira vd. 2014).

Bazı çalışmalar, interlökin-6 (IL-6) ve C-reaktif proteini (CRP) gibi inflamatuvar belirteçlerin NO seviyesini azalttığını göstermiştir. Böylece NO derişimi azalmakta, endotelin 1 (ET-1) artmakta ve endotel işlevsizliği süreci hızlanmaktadır (Teixeira vd. 2014).

Düşük seviyeli kronik inflamasyonlar, kronik yaralanmalar, diyabet, obezite ve diğer bazı hastalıklar gibi birçok farklı faktöre bağlı olabilir. İnflamasyon artışı, nötrofil, monosit, IL-6, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), CRP ve benzeri sitokin ve proinflamatuvar proteinlerin hücrelerde sentezini artırır. İnflamasyona tepki olarak

ortaya çıkan nötrofiller ve makrofajlar, karaciğerde CRP üretimini artıran IL-6'nın daha fazla sentezlenmesini uyarır. Buna karşılık CRP, eNOS aktivitesini zayıflatır. Böylece bir damar genişletici madde olan NO kullanılabiliirliği azalır ve bir damar daraltıcı olan ET-1 derişimi artar. Bu da endotele bağımlı damar genişleme sürecini zayıflatır. Damar genişlemesinin azalması, kan akımının damarlara uyguladığı mekanik kayma kuvveti olan kayma stresinde bir artışa neden olur ve bunun sonucunda kan damarında daha büyük bir hasar oluşarak aterosklerotik süreç ve trombüs oluşumu için elverişli koşullar oluşur (Teixeira vd. 2014)(Şekil 1).



Şekil 1.1. İnflamatuvar sürecin nedenleri (Teixeira vd. 2014)

Altta yatan patolojik süreç, arter duvarının iç tabakasında okside lipidlerin çökmesi sebebi ile oluşan kronik inflamasyon ile karakterize edilen aterosklerozdur (Elsaid vd. 2014).

İnflamatuvar yolakta, sitokinler çok sayıda işlevi yerine getirmektedir ve çeşitli sitokinler arter duvarındaki inflamatuvar süreç ile ilgilidir (Sie vd. 2006, Elsaid vd. 2014).

İnflamasyonun, aterosklerozun önemli bir bileşeni olması nedeniyle inflamatuvar sitokinleri kodlayan genler KAH'a yatkınlığın belirlenmesi ve KAH patogeneziindeki

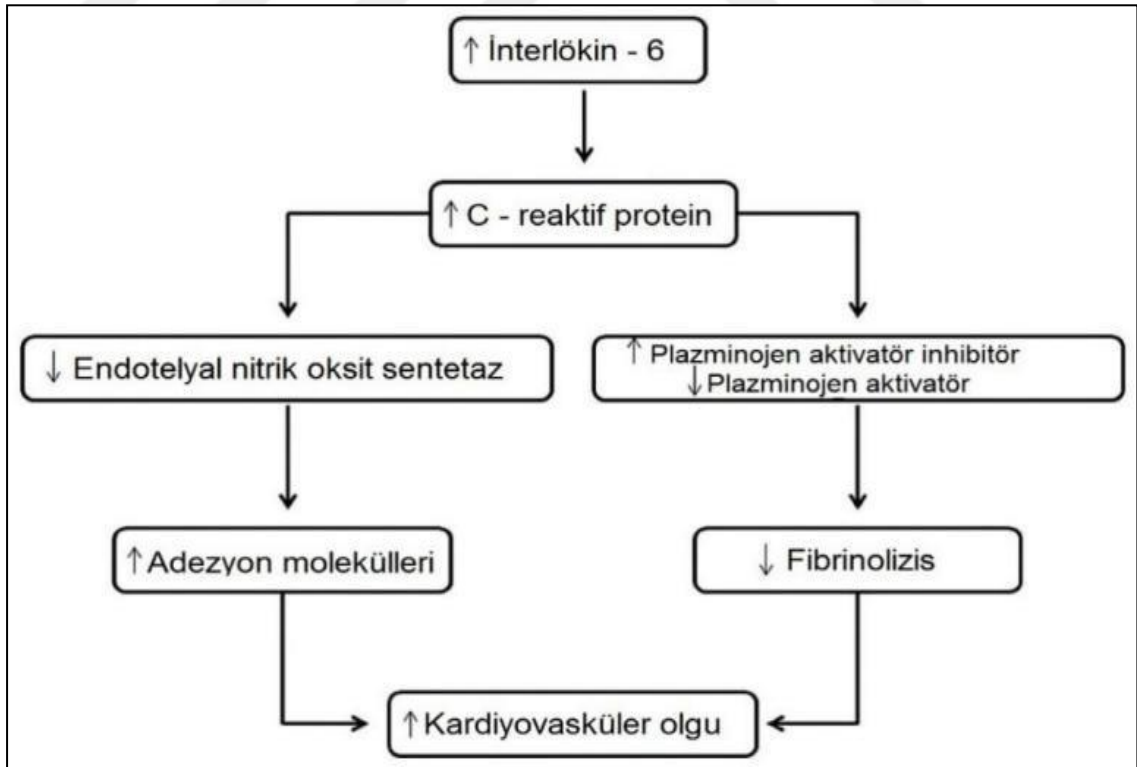
rolünü anlamak için belirteç olmaya adaydırlar ve bu nedenle ateroskleroz gelişiminde sitokinlerin ilişkisi özel ilgi görmüştür (Jha vd. 2010, Galimudi vd. 2013, Yin vd. 2013).

Sitokinleri, adezyon moleküllerini ve CRP'yi kapsayan bazı inflamasyon belirteçlerinin plazma seviyelerinin, klinik olarak çeşitli kardiyovasküler riskler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gündoğdu vd. 2007, Jha vd. 2010).

Patogeneizde potansiyel rolünün yanısıra, bu sitokinlerin dolaşım derişimleri prognoz için markır olarak hizmet vermektedir (Galimudi vd. 2013).

Bunlardan IL-6, inflamatuvar yanıtın tüm akut faz proteinlerinin sentezini uyaran bir pleiotropik sitokin olup ateroskleroz inflamasyonunun öngörülmesi için kullanılan yeni belirteçtir (Sie vd. 2006, Tonet vd. 2008, Sanders vd. 2009, Wypasek vd. 2010, Galimudi vd. 2013). IL-6, hem lokal hem de sistemik olarak pro- ve anti-inflamatuvar etkili davranan bir sitokindir (Bennermo vd. 2004).

Dünya çapında yapılan çalışmalarda, IL-6'nın yaşa bağlı olarak rahatsızlıklarda rol oynadığı gösterilmiştir (Tonet vd. 2008). Pek çok çalışma, IL-6 plazma seviyeleri ve kardiyovasküler patoloji arasında da bir ilişki olduğunu göstermiştir (Sie vd. 2006, Gündoğdu vd. 2007)(Şekil 2).



Şekil 1.2. IL-6 ve kardiyovasküler olgu arasındaki ilişki (Teixeira vd. 2014)

IL-6 sitokini akut inflamatuvar yanıtta önemli bir rol oynar ve akut faz proteinlerinin üretimini yönetir. Çeşitli inflamatuvar uyaranlara tepki olarak sentezlenir ve akut faz protein araçlarının üretimini sürdürür. IL-6, inflamatuvar ve aterosklerotik süreçler arasında önemli bir köprü rolü oynayabilir (Brull vd. 2001, Vickers vd. 2002, Sanders vd. 2009, Wypasek vd. 2010, Elsaid vd. 2014).

IL-6 düzeylerindeki artış, akut koroner sendrom hastalarında rapor edilmiştir ve sağlıklı erkeklerde ileride MI riski, iskemik şok ve ani kardiyak ölümleri ile ilişkilidir (Gündoğdu vd. 2007, Wypasek vd. 2010, Elsaid vd. 2014).

IL-6'nın bazal düzeylerindeki hafif yükselmeler, KAH riski, gelişimi, şiddeti, plağın istikrarsızlığı ve tromboz oluşumu ile ilişkilidir (Brull vd. 2001, Gündoğdu vd. 2007, Wypasek vd. 2010, Yin vd. 2012, Elsaid vd. 2014). IL-6, endoteli aktifleştirir, damar duvarına lökosit taşınmasına neden olur ve vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasını uyarır, plak büyümesi ve/veya plağın kararsız hale gelmesine neden olabilen etkiler gösterir (Bennermo vd. 2004).

İlk olarak, IL-6, kan viskozitesinin ana belirleyicisi olan fibrinojen sentezini uyarır ve endotele doğrudan patojenik olabilir (Gündoğdu vd. 2007, Elsaid vd. 2014). Ek olarak, hem kanın viskozitesi hem de fibrinojen düzeyi kan basıncı ile pozitif ilişkilidir (Elsaid vd. 2014).

İkinci olarak, IL-6, anjiyotensinojen ifadenmesini etkilemektedir, bu şekilde güçlü bir damar daraltıcı anjiyotensin II'nin daha yüksek bir derişime çıkmasına yol açar. Anjiyotensin II'nin insan vasküler düz kas hücrelerini uyarması IL-6 ifadenmesinde ve salınımında doza bağımlı bir artış ile inflamatuvar aktivasyonuna yol açar (Elsaid vd. 2014).

Üçüncü olarak, IL-6'nın dolaşımdaki % 30'a kadar kısmı, yağ dokusu ile üretilir ve obezite ile hipertansiyon arasındaki ilişkisi iyi bilinmektedir (Elsaid vd. 2014).

Son olarak, IL-6, damar duvarında kollajen sentezini artırır ve yıkımını azaltır. Bu nedenle, IL-6 düzeylerinin, vasküler uyumu ve zaman içindeki kan basıncını etkileyebilmesi mümkündür (Elsaid vd. 2014).

IL-6, matris metalloproteinazların (MMP), monosit kemotaktik protein 1 (MCP 1) ve TNF- α 'nın ifadenmesinde düzensizliğe yol açar ve Janus kinazlarını (JAK) aktive ederek CRP'nin üretimini teşvik eder ve plak oluşumunu artırır (Wypasek ve vd. 2010,

Galimudi vd. 2013). Böyle bir etki, alt akut faz proteinlerinin etkisi yoluyla olsa da, IL-6 kendisi doğrudan patojen de olabilir (Brull vd. 2001).

IL-6'nın plağın büyümesi veya kararsızlığına yol açabilen etkileri, endotel hücre aktivasyonunu sağlamak, vasküler düz kas hücresi çoğalmasını ve lökosit takviyesini uyarmak ile ilişkilidir (Brull vd. 2001). Ancak, bu tür mekanistik verilere rağmen, KKH ile yüksek IL-6 seviyelerinin ilişkisi bunun bir kanıtı değildir (Brull vd. 2001). Yüksek IL-6 düzeylerinin koroner lezyonlara neden olmasından ziyade lezyonlar, IL-6 seviyelerinin yükselmesine neden olan, proinflamatuvar etkenler olabilirler (Brull vd. 2001).

IL-6, inflamasyonda görev aldığı gibi kemikmetabolizması, bağışıklık sistemi, üreme, nöral gelişim ve özellikle de karaciğer tarafından akut faz reaktanlarının sentezinin ana düzenleyicisidir (Humphries vd. 2001).

IL-6, insanda bulunan 7. kromozomunun p21 bölgesi üzerinde bulunur. IL-6 geninin yaygın bir genetik polimorfizmi, 1998'de bu genin 5' -174 promotör bölgesinde G/C polimorfizmi olarak tanımlanmıştır (Gündoğdu vd. 2007, Yin vd. 2012). En son yapılan deneysel çalışmalar, IL-6 geninin promotör bölgesinde 4 polimorfizmin varlığını tespit etmiştir. Bunlar: -597G/A, -572G/C ve -174G/C ile değişen sayılarda adenin ve timin kalıntılarından oluşan ve AnTn bölgesi olarak adlandırılan dördüncü bir lokus bölgesidir (konum -373)(Brull vd. 2001).

Başlangıç verileri -174 G/C polimorfizminin *in vitro* işlevsel olabileceğini göstermektedir (Brull vd. 2001). Daha önceki yapılan çalışmalar, bu promotör bölgedeki G/C mutasyonunun, IL-6 gen transkripsiyonu ve serum seviyelerini etkileyebileceğini düşündürmektedir (Yin vd. 2012). IL-6 genindeki -174 G/C ve -572 G/C varyantının, birçok çalışmada yüksek IL-6 seviyeleri ile *in vitro* bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Sanders vd. 2009). Bu polimorfizmin, IL-6 geninin transkripsiyonunu ve IL-6 plazma seviyelerini etkilediği görülmektedir ve bu nedenle, IL-6, KKH'ların anlaşılması için aday gendir (Sie vd. 2006).

IL-6 geninin promotör bölgesinde -174 G/C pozisyonunda, genin transkripsiyonunu etkileyen işlevsel, yaygın bir Tek Nükleotid Polimorfizmi'nin (TNP, rs1800795), KKH, Alzheimer, kanser, insülin bağımsız diyabet, osteoporoz gibi çeşitli önemli hastalıklar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Galimudi vd. 2013, Elsaid vd. 2014).

IL-6 -174 G/C polimorfizminin yaygın olması ve IL-6 plazma seviyelerini etkilemesi sebebiyle araştırmamızda IL-6'nın -174 G/C polimorfizmine bakılmıştır.

Bu polimorfizmde G ve C aleli olmak üzere iki farklı alel tespit edilmiştir ve GG, GC ve CC şeklide üç muhtemel genotip ile sonuçlanmaktadır (Elsaid vd. 2014). IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi, Kafkas popülasyonunda oldukça polimorfik olma eğilimindedir ancak Asya ve Afrika popülasyonları G alel için neredeyse monomorfik bulunmaktadır (Anonim 3, 2016). Sağlıklı Kafkasyalılarda C alelinin sıklığı %48'dir (Wypasek vd. 2010). Ancak ateroskleroz ve genetik arasındaki ilişki üzerine birçok çalışma olmasına rağmen, bu ilişki henüz açıklık kazanmış değildir (Gündoğdu vd. 2007).

IL-6 düzeylerinin, -174 G aleline göre -174 C alelinde daha düşük ve lipopolisakkarid ve Interlökin 1 (IL-1) ile daha az uyarıldığı belirlenmiştir (Brull vd. 2001).

Son yapılan başka çalışmalarda IL-1 ile uyarılmaya ilişkin tam tersi bir durum görülmüştür (Brull vd. 2001).

Çoğu çalışma, dolaşımdaki IL-6 düzeylerinin C aleli olanlara göre -174 G aleli olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Fishman vd. 1998, Burzotta vd. 2001, Merino vd. 2004, Trevelyan vd. 2004, Yin vd. 2012, Elsaid vd. 2014). Ancak bazı çalışmalar C alelinin plazmada daha yüksek IL-6 düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Terry vd. 2000, Brull vd. 2001, Yin vd. 2012).

In vitro olarak IL-6 gen transkripsiyonunda etkili olan IL-6 promotörünün tanımlanan -174 G/C polimorfizmi, bazı çalışmalarda plazma IL-6 seviyeleri ile ilişkili olarak incelenmiş ancak bu çalışmaların sonuçları genel olarak uyumsuz bulunmuştur (Vickers vd. 2002).

IL-6 pro-inflamatuvar yanıtın önemli bir bileşenidir. Monositler ve makrofajlar, T ve B hücreleri, fibroblastlar, kemik iliği stroma hücreleri, endotelial hücreler, hepatositler, düz kas hücreleri ve yağ dokusu da dahil olmak üzere birçok doku ve hücre türleri tarafından salgılanabilirler. Başta IL-1 ve TNF- α olmak üzere diğer sitokinler tarafından uyarılabilirler (Humphries vd. 2001, Wypasek vd. 2010, Elsaid vd. 2014, Teixeira vd. 2014).

IL-6'nın hücre içi sinyal kaskadı bilinen iki mekanizma ile oluşur:

1 - Lenfoid dokuda, IL-6 transmembran reseptörü üzerinde membrana bağı glikoprotein 130 (Gp130) ile IL-6 etkileşimi ile (örneğin, IL-6 reseptör bağlanma)

2 – Çekirdekli hücrelerde çözünebilir IL-6 reseptörüne IL-6 bağlanması ve bunu takiben transmembrana Gp-130 bağlanması ile (örneğin, IL-6 trans-reseptör bağlanma) (Anderson vd. 2013).

Çözünebilir glikoprotein 130 (sGp130) sitokin sinyali için tipik bir dönüştürücüdür ve çok-bileşenli reseptör kompleksleri oluşturarak birçok IL-6 sitokin ailesinin çoklu sinyal iletimini sağlar (Anderson vd. 2013).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

IL-6 -174 G/C polimorfizminin KAH dışındaki etkisini araştıran bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlar aşağıdadır.

Ocak-Eylül 2006 tarihleri arasında Polonya’da 179 Kafkasyalı Koroner arter baypass greft (KABG) hastası ile yapılan çalışmada, KABG hastalarında ameliyat öncesi ve sonrasında, -174 C alel mevcudiyetinin, bir nebze de olsa yüksek plazma CRP seviyeleri ve IL-6 derişimleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Wypasek vd. 2010).

700 yaşlı (55-74 yaş aralığı) Kafkasyalı ile yapılan çalışmada, IL-6-174 G alelinin tip-2 diyabet ile anlamlı bir ilişkisi olduğu belirlenmiştir ve daha kapsamlı bir araştırma için diyabetli alt grupların da ayrıntılı olarak incelenmesi gerektiği bildirilmiştir (Illig vd. 2004).

Vaxillaire vd. G alelinin tip-2 diyabet riskini arttırdığını, C alelinin ise riski azalttığını bildirmişlerdir (Vaxillaire vd. 2008).

Tip-2 diyabetli 571 hasta ile yapılan çalışmada, IL-6 -174 C aleli ile yüksek vücut kitle indeksi arasında ilişki bulunmasına karşın sigara kullanımı ile diyabet arasında hiçbir ilişki bulunamamıştır (Stephens vd. 2004).

Bamoulid vd. böbrek nakli sonrasında IL-6 -174 GG genotipli olan hastalarda CC genotipine kıyasla diyabete yakalanma riskinin ve yüksek CRP görülme oranının daha yüksek olduğunu bulmuşlardır ve bu polimorfizmin bu alanda mutlaka belirteç olarak kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir (Bamoulid vd. 2006).

Lu vd. akciğer transplantasyonu sonrasında, bronşiyolitits obliterans sendromu gelişmesi (BOS) olasılığının IL-6 -174 G taşıyıcılarında daha yüksek olduğunu bulmuşlardır ve bu sendromun gelişmesine yönelik müdahalede bulunabilmek için bu polimorfizmin belirteç olarak kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir (Lu vd. 2002).

Jeng vd. hipertansiyonlu Çinli hastalarda, IL-6 -174 G alelinin daha sık görüldüğünü ve CC genotipine göre GG genotipli hastalarda plazminojen aktivatör önleyicisi-1’in (PAI-1) önemli ölçüde daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Jeng vd. 2005).

Gatti vd. 168 Brezilyalı hasta ile yaptıkları çalışmada IL-6 -174 G alel frekansı olan kronik gastrit hastalarında mide kanseri frekansının daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Gatti vd. 2007).

Kronik ve iltihabi bir bağırsak hastalığı olan Crohn hastalıklı 153 çocukla yapılan araştırmada, IL-6 -174 GG genotipinin bu hastalığın oluşumunu etkilememesine karşın CC ve GC genotipli olanlara göre daha fazla büyüme geriliği olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca GG genotipine sahip hastalarda CRP seviyelerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Sawczenko vd. 2005).

Halverstadt vd. yaptıkları çalışmada 24 haftalık egzersiz sonrası IL-6 -174 C aleli taşıyan bireylerde IL-6 -174 G alel frekansı olan bireylere göre, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeylerinin daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak, bu polimorfizmin egzersize karşı dayanıklılık ve kişiye hangi egzersizlerin uygulanması gerektiği ile ilgili klinisyenlere bilgi verebileceği bildirilmiştir (Halverstadt vd. 2005).

Moscovis vd. Avustralyalı bebeklerde IL-6 -174 GG genotipinin kontrol grubuna göre ani bebek ölümü sendromunun daha sık olduğunu bulmalarına karşın Opdal ve Rognum yaptıkları çalışmada Norveç popülasyonunda bu ilişkiye rastlayamamışlardır (Moscovis vd. 2006 ve Opdal ve Rognum 2007).

Wieser vd. IL-6 -174 G alel taşıyıcısı olan endometriyozlu kadınlarda, çikolata kistlerinin gelişmesinin daha olası olduğunu ve G alel taşıyıcılarının endometriyoz gelişiminde biraz daha yüksek risk altında olabileceğini öne sürmektedirler (Wieser vd. 2003).

Emonts vd. 348 örnek ile yaptıkları çalışmaya dayanarak; IL-6 -174 GG genotipli çocuklarda akut otitin tekrarlama olasılığının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Emonts vd. 2007).

Goyenechea vd. IL-6 -174 CC ve GC genotipli aşırı kilolu Kafkasyalıların (vücut kitle indeksi $\sim 33 \pm 5 \text{kg/m}^2$) hipertansiyon, ateroskleroz ve insüline direnç gibi obezite ile ilişkili metabolik bozuklukların gelişimi için yüksek risk altında olduklarını bildirmişlerdir (Goyenechea vd. 2007).

Tan vd. prostat kanserli hastalarda, IL-6 C alelinin, IL-6 GG homozigotlara göre daha agresif kanser ve daha yüksek prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir ve IL-6 geninin tekrarlayan prostat kanseri riski ile bağlantılı olabileceğini önermektedirler (Tan vd. 2005).

Bittar vd. IL-6 C alelinin, ameliyat sonrası yüksek IL-6 seviyeleri ve koroner revaskülarizasyon (yeniden damarlanma) cerrahisi sonrası daha az olumlu klinik sonuçlar ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Bittar vd. 2005).

Babel vd. 122 yetişkin üzerinde yaptıkları çalışmada periodontitis hastalarında kontrollere göre IL-6 CC genotipinin anlamlı olarak daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu polimorfizmin değerlendirilmesi ile potansiyel periodontitisin daha doğru tahmin edilebileceğini ve duyarlı kişilerde önleyici tedaviler için gerekli düzenlemelerin yapılabileceğini önermektedirler. Ayrıca IL-6 -174 G/C polimorfizmi üzerinde yapılacak çalışmalar ile periodontitis patogenezinin, temelli tedavisinin geliştirilmesinin kolaylaştırabileceğini de bildirmişlerdir (Babel vd. 2006).

Licastro vd. Kuzey İtalya'da 332 Alzheimer hastası ve 393 kişiden oluşan kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, IL-6 C alelinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Alzheimer hastalığı olan bireylerde daha fazla bulunduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda IL-6 CC genotipili kadınların bu hastalığa yakalanma risklerinin diğer genotipli kadınlara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Licastro vd. 2003).

Hurme vd. 90 ile 95 yaşları arasında 114 yaşayan ve 171 ölmüş kişi ile yaptıkları çalışmada IL-6 G alelinin ömür uzunluğu ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (Hurme vd. 2005).

IL-6 ile KAH arasındaki ilişkiyi araştıran bazı çalışmaların sonuçları ise aşağıda verilmiştir.

Elsaid vd. Mısırlı 108 KAH ve 143 sağlıklı kişi ile yaptıkları çalışmada IL-6 GC genotipi ve G aleli ile KAH arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır (Elsaid vd. 2014).

Humphries vd. 50 ile 61 yaş arasında 3052 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada KAH ve IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. GG genotipli erkeklere kıyasla, GC heterozigotları için KAH riski 1.54 (1.06-2.22) iken, CC homozigotları için 1.11 (0.67-1.83) olarak bulmuşlardır (Humphries vd. 2001).

Galimudi vd. Hindistan'da 200 hasta ve 200 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, birinci dereceden akrabalarda -174 C alelinin güçlü bir şekilde KAH riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Galimudi vd. 2013).

Antonicelli vd. akut koroner sendromlu 139 yaşlı erkeklerle yaptıkları çalışmada IL-6 -174 GC veya CC genotiplerine göre GG genotipli hastaların bir yıl içinde ölme riskinin 3.89 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Antonicelli vd. 2005).

IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile KAH arasında ilişki olduğuna dair kanıtlar bulunan çalışmalar olduğu gibi herhangi bir ilişki saptanamayan çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalardan bazıları aşağıdadır.

Nauck vd. Haziran 1997-Ocak 2000 tarihleri arasında, Almanya’da 3304 (KAH: 2575 birey, Kontrol: 729 birey) beyaz hasta ile yaptıkları “Ludwigshafen Risk Kalp ve Damar Sağlığı” (LURIC) çalışmasında IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır (Nauck vd. 2002).

Sie vd. 6434 örnekli Rotterdam meta-analiz çalışmasında IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile KKH riski arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (Sie vd. 2006).

İsveç’teki bir araştırmada -174 G/C polimorfizmi ve kardiyovasküler ölüm riski ya da takip sırasında yeni MI arasında bir ilişki bulunamamıştır (Bennermo vd. 2004).

Zheng vd. yaptıkları meta analiz çalışmasında, IL-6 genindeki -174 G/C polimorfizmi ile KKH oluşma riski arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (Zheng vd. 2012).

Satti vd. Pakistan’da en az bir bireyi KAH olan 30 farklı aileden bireylerle yaptıkları çalışmada, KAH ve -174 G/C polimorfizmi arasında ilişki bulamamışlardır (Satti vd. 2013).

Yıldırım Yaroğlu vd. 70 koroner arter hastası ve 60 kişi içeren kontrol grubu ile yaptıkları araştırmada IL-6 serum düzeyleri ile KAH arasında ilişki bulamamışlardır (Yıldırım Yaroğlu vd. 2009).

Ma vd. 26 Mayıs 2010 tarihine kadar yayınlanmış 30 makale üzerinde yaptıkları meta-analiz çalışmasında IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile KAH arasında ilişki bulamamışlardır (Ma vd. 2011).

Bazı çalışmalarda farklı kökene dayanan bireylerde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, Rios vd. Afrika kökenli Brezilyalılarda KAH ile IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında ilişki bulmuş, Kafkas kökenli Brezilyalılarda herhangi anlamlı bir ilişki bulamamıştır (Rios vd. 2010).

Yin vd. 2012 yılında meta-analiz çalışması ile 9619 KKH ve 10919 kontrol bulunan toplam 20 çalışmayı incelemiş ve IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi ve KKH risk arasındaki ilişkiyi gösteren hiçbir kanıt bulamamışlardır. Ancak etnik kökene göre alt grup analizlerinde, Asyalılar arasında IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi ile KKH riski arasında ilişki olduğunu belirlemişlerdir (Yin vd. 2012).

Yin vd. 2013 yılında yayınladıkları 33514 örnek içeren (KAH: 15029 birey, Kontrol: 18485 birey) 50 farklı çalışmayı kapsayan başka bir meta-analiz çalışmasında, IL-6 geni -174 G/C polimorfizminin, ateroskleroza yatkınlıkla ilişki bulamamışlar fakat etnik kökene dayalı alt grup analizlerinde Kafkas olmayan grup arasında C alel taşıyıcılarında KAH gelişme riskinin, G aleli taşıyanlara göre 1.22 kat fazla olduğunu bulmuşlardır (Yin vd. 2013).

Görüldüğü gibi bazı çalışmalar IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile KAH arasında ilişki olduğunu göstermesine karşın diğer bazı çalışmalarda herhangi bir ilişkiye rastlanılmamıştır. KAH ile IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığı, eğer bir ilişki söz konusu ise bu ilişkinin bölgesel mi yoksa genel mi olduğu tam kesinlik kazanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada amaç Adıyaman popülasyonunda KAH ile IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında ilişkinin olup olmadığını araştırmaktır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1.Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Bu çalışmada, Adıyaman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji polikliniğine başvuran, ateroskleroz tanısı konmuş, akraba olmayan 15'i kadın 54'ü erkek olmak üzere toplam 69 hasta ile kendisinde ve ailesinde herhangi bir kardiyovasküler hastalığı olmayan 27'si kadın 55'i erkek toplam 82 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmada son 1 ay içinde akut koroner sendrom anemnezi olan, kronik kalp yetersizliği, kalp kapak hastalığı, konjenital kalp hastalığı, kardiyomiyopati, kronik böbrek yetersizliği, karaciğer disfonksiyonu, akciğer hastalığı, inme geçirmiş olanlar çalışmadan dışlandı. Kendisinde ve ailesinde herhangi bir kardiyovasküler hastalığı ve herhangi bir kronik hastalığı olmayan (diyabet, hipertansiyon, astım gibi), başka sebeplerle hastaneye başvuran gönüllü kişiler kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Bu bireyler arasında sigara içenler, alkol kullananlar, çalışmadan dışlandı. Genetik homojenlik sağlamak için sadece tek bir merkeze başvuran bireyler seçildi. Adıyaman Üniversitesi Biyomedikal Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2012/04-1.5 karar nolu onay alındı. Gerekli bilgilendirme yapıldı ve hasta onayı alındıktan sonra kan örnekleri alındı (EDTA tüplere).

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan aletler ve cihazlar

- Elektroforez Tankı (EC Midicell EC 350, 20x20cm)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo scientific-EC 1000 XL)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France ve BioRad ChemiDoc MP)
- Gradient PCR (Applied Biosystems Veriti)
- Manyetik Karıştırıcı (Wisd-MSH-20A)
- Analitik Terazî (OHAUS/Pioneer)
- Mikrosantrifüj (Hermle, Z160M)

- Vorteks (VELP)
- Santrifüj (Nüve NF 800)
- Mikropipet Seti (Gilson)
- Derin Dondurucu (Beko)
- Etüv (Nüve EN-500)
- Otoklav (Daihan Wiseclave)
- Buzdolabı (Vestel)
- Mikrodalga Fırın (Beko)
- Saf Su Cihazı (ELGA Centra)
- pH Metre (Thermo Scientific)

3.2.2. Kullanılan kimyasal maddeler

- 100 bp DNA Ladder GeneRuler Marker (MBI, # SM 0241)
- Taq DNA Polimeraz (Fermentas, EP0402)
- 10X Taq Buffer with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Fermentas)
- 6 X DNA Loading (Fermentas R 0611)
- 2 mM dNTP Mix (Fermentas)
- 25 mM MgCl_2 (Fermentas)
- Agarose Plus (Seakem/LE agarose)
- Bidistile Su (Fluka-Analytical-95304 Watter Wasser)
- Borik Asit (Sigma B 6768)
- Etanol (Merck KGaA 64271)
- Ethidium Bromide(EtBr) (Sigma E-8751-1G)
- Disodyum-Etilen Dimetil Tetra Asetik Asit ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$) (Sigma E-5134)
- Orange G (Sigma O-3756)
- Primerler (İnvitro Gen)
- Proteinaz-K (Sigma P-2308)
- Sodyum Dodesil Sülfat, SDS (Sigma L-5750)
- Sodyum Klorür (Merck KGaA 64271)
- Sodyum Perklorat (Sigma S-3546)

- Tris-Hidroklorid (Sigma T-5941)
- Trizma Base (Sigma T-1503)

3.2.3. Kullanılan çözeltiler

Nuklei Lizis Tamponu

Tris-HCl.....1.576 g

NaCl.....23.4 g

Na₂EDTA.....0.7 g

1 L distile su ile tamamlayıp çözdükten sonra otoklavda sterillenip ve + 4 °C’de saklandı.

10 mg/mL Proteinaz K Çözeltisi

100 mg Proteinaz K, 10 mL steril distile su ile çözülerek hazırlandı ve -20 °C’de saklandı.

5M Sodyum Perklorat Solüsyonu

61.2 g sodyum perklorat (NaClO₄) distile su ile 1 L’ye tamamlanıp çözüldükten sonra otoklavda sterillendi ve +4 °C’de saklandı.

% 10 SDS Çözeltisi

10 g SDS 100 mL distile suda çözüldü.

6 M NaCl Solüsyonu

35.5 g NaCl 100 mL distile suda çözüldü.

TE (Tris-HCl) Tamponu

Tris-HCl.....0.394 g

Na₂EDTA.....0.093 g

250 mL distile suya tamamlanıp çözdükten sonra otoklavda steril edildi ve +4°C’de saklandı.

10xTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu

Trizma Base.....108 g

Borik Asit54.8 g

EDTA.....5.44 g

Distile su ile 1L’ye tamamlanarak çözüldü.

Orange G çözeltisi

Na₂ EDTA 2.232 g

Orange G.....200 mg

60 mL Gliserol ve 40 mL distile sudan oluşan solüsyon içerisinde çözüldü.

Elektroforez Yürütme Tamponu

10X TBE tamponundan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1X TBE içerisinde 0.5µg/mL konsantrasyonunda olacak şekilde EtBr konularak hazırlandı.

% 3'lük Agaroz Jel Solüsyonu

140 mL 1X TBE tamponu içerisinde 4.2 g agaroz (Agarose plus) mikrodalga fırında eritildikten sonra 0.5 µg/mL derişiminde olacak şekilde EtBr eklenerek hazırlandı.

3.3. Yöntem

3.3.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden 7-8 mL venöz kan alınarak 1 mL % 2'lik EDTA içeren, 15 mL'lik santrifüj tüplerine konuldu. Bu kanlardan tuz çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu yapıldı. Bu yöntemin esası, lökositlerde bulunan DNA dışındaki tüm yapıların bozularak parçalanması, bu parçaların yoğun bir tuz çözeltisi ile çöktürülmesi ve üstte kalan sıvı kısımda bulunan DNA'nın etil alkol yardımı ile yoğunlaşması sağlanarak izole edilmesidir (Miller vd. 1998).

1.gün

1. İçinde 7-8 mL kan bulunan 15 mL'lik santrifüj tüpü üzerine soğuk steril distile su ilave edilerek 13 mL'ye tamamlandı.
2. Karışım 2-3 dk hızlı bir şekilde aşağı yukarı karıştırıldı.
3. 10 dk. 2000 rpm'de oda ısısında santrifüj edildi.
4. Supernatant atıldıktan sonra peletin üzerine soğuk steril distile su ilave edilerek 13 mL'ye tamamlandı.
5. 10 dk. 2000 rpm'de santrifüj edildi ve supernatant atıldı. Bu işlem 5 kez tekrarlandı.
6. Pelet üzerine 3 ml lizis buffer eklendi.
7. 50µL proteinaz K (10mg/mL), 500µL 5M sodyum perklorat ve 200µL %10 SDS eklendi.
8. Tüp aşağı yukarı alt üst edilerek bir gece 37⁰C'de etüvde inkübe edildi.

2. gün

9. 2 mL amonyum asetat ilave edilip hızlıca yaklaşık 20 defa aşağı yukarı karıştırıldı.
10. Oda ısısında 10 dk bırakıldı ve 15 dk 3500 rpm'de santrifüj edildi.

11. Supernatant başka bir tüpe alınarak ve 2 katı oranında soğuk absolü etanol eklendi. Dikkatli bir şekilde karıştırıldı ve ortaya çıkan DNA otomatik pipet kullanılarak pipet ucuna sarılarak alındı.
12. 500 µL TE içeren tüpe alındı ve oda ısısında çözüldü (24 saat oda ısısında tutuldu).
13. DNAaz inaktivasyonu için 80⁰C’de 10 dk tutuldu.

3.3.2. Moleküler analiz

3.3.2.1.IL-6 gen varyantlarının belirlenmesi

IL- 6 geni polimorfik bir gen olup en yaygın polimorfizmlerden -174 G/C’in belirlenmesi için; kontrol ve hasta bireylerden alınan venöz kan örneklerinden elde edilen DNA’lar kullanıldı. IL-6 geni -174 G/C bölgesi için Primerler:

F: 5’-TTGTCAAGACATGCCAAGTGCT-3’

R: 5’-CCTCAGAGACATCTCCAGTCC-3’ kullanılarak PCR yapıldı.

PCR ortamı

Distile Su	16.5 µL
10x PCR Buffer (NH ₂ (SO ₄))	2.5 µL
2 mM dNTP Mix	2.5 µL
Primer F	0.5 µL
Primer R	0.5 µL
25 mM MgCl ₂	1.3 µL
Taq DNA Polimeraz	0.2 µL
Genomik DNA	1 µL

PCR reaksiyon karışımı her bir örnek için final hacim 25 µL olacak şekilde hazırlandı.

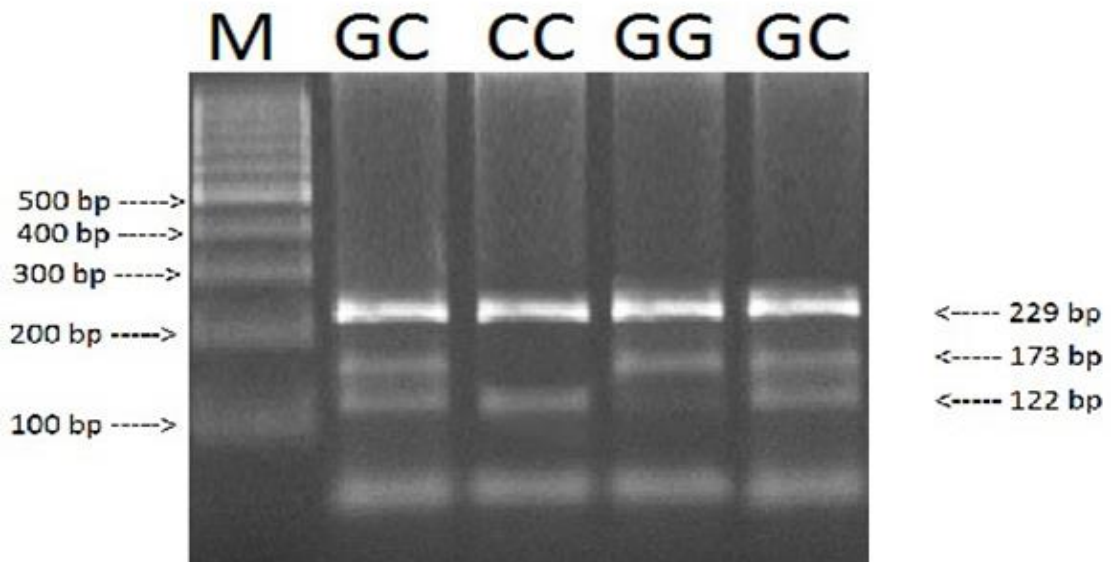
PCR şartları

94 ⁰ C de	7 dk	ilk denatürasyon	-----1x
94 ⁰ C de	40 sn	denatürasyon	
55 ⁰ C	40 sn	bağlanma	
72 ⁰ C de	40 sn	uzama	-----35x
72 ⁰ C de	7 dk	son uzama	-----1x
4 ⁰ C de bekleme			

IL-6 -174 G/C polimorfizmi için bağlanma sıcaklığı 55⁰C olarak düzenlenmiştir. Elde edilen PCR ürünleri her bir örnek için 10 U/μL olacak şekilde IL-6 -174 G/C polimorfizmi için NlaIII (Fermantes) endonükleaz restriksiyon enzimi ile 37 °C de 1 gece inkübe edilerek kesildi.

Daha sonra PCR ürünleri, % 2'lik agaroz jelde 120 V elektrik akımı kullanılarak elektroforez işlemi yapıldı ve görüntüleme cihazı kullanılarak oluşan PCR ürünleri değerlendirildi.

IL-6 -174 G/C polimorfizmi için yapılan restriksiyon enzimi kesim sonrası oluşan fragment uzunlukları; C aleli için 229, 122, 51 ve 29 bp'lik fragmentler, G aleli için 229, 173 ve 29 bp'lik fragmentlerdir.



Şekil 3.1. IL-6 -174 G/C polimorfizmi agaroz jel görüntüsü

3.3.3. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

İstatistik analizi yapmaz üzere SPSS 18 ve Med cal C paket program kullanılıştır.

Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek üzere Kruskal-Wallis, ki-kare, Student's t testi ve lojistik regresyon testi uygulanmıştır.



4. BULGULAR

Yaptığımız çalışmamızda Adıyaman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Polikliniği'ne başvuran, KAH tanısı konmuş, akraba olmayan 15'i kadın 54'ü erkek olmak üzere toplam 69 hasta ile kendisinde ve ailesinde herhangi bir kardiyovasküler hastalığı olmayan 27'si kadın 55'i erkek toplam 82 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Bütün bu gruplardaki bireylerin kişisel özellikleri belirlenip Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Gruplar arasında kişisel özelliklerin karşılaştırılması

Kişisel özellik	Kontrol N=82 (%)	KAH N=69 (%)	P
Cinsiyet			
(E/K)	55 (67.1)/27(32.9)	54 (78.3)/15(21.7)	0.150
Yaş			
(Ort. ± Std. hata)	58.89 ± 11.35	60.28 ± 11.61	0.120
Total kolesterol			
(Ort. ± Std. hata)	191.19 ± 35.55	200.02 ± 42,81	0.203
HDL kolesterol			
(Ort. ± Std. hata)	44.73 ± 14.19	36.42 ± 9.90	0.001
LDL kolesterol			
(Ort. ± Std. hata)	109.83 ± 32.17	129.64 ± 34.17	0.002
Trigliserid			
(Ort. ± Std. hata)	184.40 ± 118.46	169.43 ± 99.00	0.148

Çalışmamızda kullanılan örneklerin IL-6 -174 G/C polimorfizmi genotip ve alel frekansları belirlenmiş olup kontrol ve KAH grupları IL-6 -174 G/C polimorfizmi bakımından karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. KAH ve kontrol gruplarında IL-6 -174 G/C polimorfizmi genotip ve alel dağılımları

TNP	Genotip	Kontrol N=82 (%)	KAH N=69 (%)	P	OR (%95 GüvenAralığı)
IL-6 - 174 G/C	GG	50 (61.0)	24 (34.8)	0.001	3.274 (1.660-6.457)
	GC	28 (34.1)	44 (63.8)		
	CC	4 (4.9)	1 (1.4)		
	Alel				
	G	128 (78.0)	92 (66.7)	0.028	1.778 (1.066-2.966)
	C	36 (22.0)	46 (33.3)		

Kontrol ve hasta gruplarında IL-6 -174 GG, GC, CC genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesindedir ($P=0.975$). Kontrol grubu ile KAH grubu genotip ve alel frekansları bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür. Genotip bakımından incelediğimizde kontrol grubunda çoğunlukla GG (%61.0) genotipi bulunurken KAH grubunda GC (%63.8) genotipine rastlanılmıştır ($P=0.001$). Alel bakımından incelediğimizde C alelinin KAH'lı hastalarda daha fazla olduğu görülmektedir (Kontrol %22.0 C, KAH %33.3 C). Alel bakımından karşılaştırdığımızda kontrol grubu ile KAH arasında anlamlı bir farkın olduğu görülmektedir ($P=0.028$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

KAH, KVVH'ların tedavisindeki ilerlemelere rağmen birçok ülkede ölüm nedeni olarak en başta gelmektedir. KAH çeşitli genler, çevresel faktörler ve bunların etkileşimi tarafından belirlenen kompleks bir multifaktöriyel hastalık olup en sık görülen kalp hastalığıdır (Gündoğdu vd. 2007, YıldırımYaroğlu vd. 2009, Yin vd. 2012, Elsaid vd. 2014).

Ateroskleroz, inflamatuvar olaylar sonucunda lipid ve fibröz elementlerin damar duvarının içinde birikmesi sonucu başlayan ve ileri evrelerinde oluşan plaklardan dolayı lümen boşluğunun tıkanmasıyla kan akışının engellenmesi ile sonuçlanan bir hastalıktır. Bu durumun kalbi besleyen koroner arterlerde meydana gelmesi ile oluşan hastalığa KAH denilmektedir. KAH sonucunda koroner damarın beslediği bölgeye yeterince kan ve oksijen gidememekte ve buna bağlı olarak kalp kasında doku ölümleri (kalp krizi) görülmektedir (Lusis 2000, Drouet 2002, Shaw vd. 2008).

IL-6, inflamatuvar yanıtın tüm akut faz proteinlerinin sentezini uyaran bir pleiotropik sitokin olup ateroskleroz inflamasyonunun öngörülmesi için kullanılan yeni belirteçtir (Sie vd. 2006, Tonet vd. 2008, Sanders vd. 2009, Wypasek vd. 2010, Galimudi vd. 2013). IL-6, hem lokal hem de sistemik olarak pro- ve anti-inflamatuvar etkili davranan bir sitokindir (Bennermo vd. 2004).

İnsan arter aterosklerotik duvarının immunohistokimyal incelemesi sonucunda bağ doku matriksindeki hücresel ve hücre dışı tortularında lokalize IL-6 mRNA varlığı gösterilmiştir (Roeb vd. 1994).

IL-6'nın yüksek seviyeleri, gelecekte KVVH riski öngörüsü ve kronik anjin ve akut koroner sendromlarda kötü prognozun göstergesidir. Ancak bu tam olarak açık değildir. Bu nedenden ötürü IL-6 ifadesini düzenleme olasılığı olan IL-6 geninin promotör -174 G/C polimorfizminin KAH ve MI riskini etkileyip etkilemediğinin araştırma gereksinimi vardır. Nauck vd. yaptıkları çalışmada IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile KAH veya MI riski arasında herhangi bir ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile IL-6 plazma seviyesi arasında da anlamlı bir fark bulamamışlardır (Nauck vd. 2002).

Çalışmamızda Adıyaman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Polikliniği'ne başvuran, KAH tanısı konmuş, akraba olmayan 15'i kadın 54'ü erkek

olmak üzere toplam 69 hasta ile kendisinde ve ailesinde herhangi bir kardiyovasküler hastalığı olmayan 27'si kadın 55'i erkek toplam 82 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Öncelikle bu gruplar bireysel özellikler bakımından karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda gruplar arasında HDL kolesterol ($P=0.001$) ve LDL kolesterol ($P=0.002$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

Kontrol grubu ile KAH grubu genotip ve alel frekansları bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür. Genotip bakımından incelediğimizde kontrol grubunda çoğunlukla GG (%61.0) genotipi bulunurken KAH grubunda GC (%63.8) genotipine rastlanılmıştır ($P=0.001$). GC genotipine sahip bireylerde KAH görülme olasılığı GG genotipine göre 3.274 kat daha fazladır. Alel bakımından incelediğimizde C alelinin KAH'lı hastalarda daha fazla olduğu görülmektedir (Kontrol %22.0 C, KAH %33.3 C). Alel bakımından karşılaştırdığımızda kontrol grubu ile KAH arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu görülmektedir ($P=0.028$). C aleli taşıyan bireylerin G aleli taşıyan bireylere göre KAH riski 1.778 kat daha fazladır. Humphries vd. 50 ile 61 yaş arasında 3052 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada KAH ve IL-6 – 174 G/C polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Yaptıkları çalışmada GG genotipli erkeklere kıyasla, GC heterozigotları için KAH riski 1.54 (1.06-2.22) iken, CC homozigotları için 1.11 (0.67-1.83) olarak bulmuşlardır (Humphries vd. 2001). Galimudi vd. Hindistan'da 200 hasta ve 200 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, birinci dereceden akrabalarda -174 C alelinin güçlü bir şekilde KAH riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Galimudi vd. 2013).

Daha önce yapılan çalışmalardan Zheng vd. yaptıkları meta-analiz çalışmasında, IL-6 genindeki -174 G/C polimorfizmi ile KKH oluşma riski arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (Zheng vd. 2012). Buna benzer ilişki bulamayan çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Satti vd. Pakistan'da en az bir bireyi KAH olan 30 farklı aileden bireylerle yaptıkları çalışmada, KAH ve -174 G/C polimorfizmi arasında ilişki bulamamış Yıldırım Yaroğlu vd. 70 koroner arter hastası ve 60 kişi içeren kontrol grubu ile yaptıkları araştırmada IL-6 serum düzeyleri ile KAH arasında ilişki bulamamış ve Ma vd. 26 Mayıs 2010 tarihine kadar yayınlanmış 30 makale üzerinde yaptıkları meta-analiz çalışmasında IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile KAH arasında ilişki bulamamışlardır (Yıldırım Yaroğlu vd. 2009, Ma vd. 2011, Satti vd. 2013).

Bununla birlikte Yin vd. 2012 yılında meta-analiz çalışması ile 9619 KKH ve 10919 kontrol bulunan toplam 20 çalışmayı incelemiş ve IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi ve KKH risk arasındaki ilişkiyi gösteren hiçbir kanıt bulamamışlardır. Ancak etnik kökene göre alt grup analizlerinde, Asyalılar arasında IL-6 geni -174 G/C polimorfizmi ile KKH riski arasında ilişki olduğunu belirlemişlerdir (Yin vd. 2012). Bir başka çalışmada Afrika kökenli Brezilyalılarda KAH ile IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında ilişki bulunmuş, Kafkas kökenli Brezilyalılarda herhangi anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Rios vd. 2010).

Bu durum KAH ile IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında etnik kökene dayalı farklı sonuçların ortaya çıktığını göstermektedir. Bunun sonucunda çalışmaların etnik köken dikkate alınarak sürdürülmesi önerilmektedir. Yapılacak çalışmalar sonucunda farklı etnik gruplara farklı teşhis ve tedavi yöntemleri belirlenmesi söz konusu olabileceği gibi evrimsel açıdan etnik grupların akrabalık dereceleri de belirlenebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada KAH ile IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasında bir ilişki söz konusu olduğu gösterilmiştir. Fakat bu durum örnek sayımız dikkate alınmalı ve çalışmamızın Adıyaman iline ait popülasyon için geçerli olduğu göz ardı edilmemelidir. Farklı etnik kökene bağlı popülasyonlarda sonucun nasıl olacağı yapılacak daha kapsamlı çalışmalar ile belirlenebilecektir. Etnik köken dikkate alınarak yapılacak kapsamlı çalışmalar ile KAH ve IL-6 -174 G/C polimorfizmi arasındaki ilişkinin daha net biçimde açıklığa kavuşturulacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonim 1, (2015). Ölüm nedeni istatistikleri, Türkiye İstatistik Kurumu, <http://www.tuik.gov.tr/HbPrint.do?id=18855>
Erişim Tarihi: 01.12.2016
- Anonim 2, (2016). Cardiovascular diseases (CVDs), World Health Organization, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/#>
Erişim Tarihi: 01.12.2016
- Anonim 3, (2016). <http://www.snpedia.com/index.php/Rs1800795>
Erişim Tarihi: 01.12.2016
- Anderson, D.R., Poterucha, J.T., Mikuls, T.R., Duryee, M.J., Garvin, R.P., Klassen, L.W. Shurmur, S.W., Thiele, G.M., (2013). IL-6 and its receptors in coronary artery disease and acute myocardial infarction, *Cytokine*, 62: 395-400
- Antonicelli, R., Olivieri, F., Bonafe, M., Cavallone, L., Spazzafumo, L., Marchegiani, F., Cardelli, M., Recanatini, A., Testarmata, P., Boemi, M., Parati, G., Franceschi, C., (2005). The interleukin-6 -174 G>C promoter polymorphism is associated with a higher risk of death after an acute coronary syndrome in male elderly patients, *International Journal of Cardiology*, 103: 266-271
- Babel, N., Cherepnev, G., Babel, D., Tropmann, A., Hammer, M., Volk, H.D., Reinke, P., (2006). Analysis of tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, IL-6, and interferon-gamma gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis, *J Periodontol*, 77 (12): 1978-1983.
- Bamoulid, J., Courivaud, C., Deschamps, M., Mercier, P., Ferrand, C., Penfornis, A., Tiberghien, P., Chalopin, J.M., Saas, P., Ducloux, D., (2006). IL-6 promoter polymorphism -174 is associated with new-onset diabetes after transplantation, *Journal of the American Society of Nephrology*, 17: 2333-2340
- Becker, A.E., de Boer, O.J., van Der Wal, A.C., (2001). The role of inflammation and infection in coronary artery disease, *The Annual Review of Medicine*, 52: 289–297.
- Bennermoa, M., Held, C., Green, F., Strandberg, L.E., Ericsson, C.G., Hansson, L.O., Watkins, H., Hamsten, A., Tornvall, P., (2004). Prognostic value of plasma interleukin-6 concentrations and the -174 G>C and -572 G>C promoter

- polymorphisms of the interleukin-6 gene in patients with acute myocardial infarction treated with thrombolysis, *Atherosclerosis*, 174: 157-163
- Bittar, M.N., Carey, J.A., Barnard, J., Fildes, J.E., Pravica, V., Yonan, N., Hutchinson, I.V., (2005). Interleukin-6 G -174 C polymorphism influences outcome following coronary revascularization surgery, *The Heart Surgery Forum*, 8 (3): E140-E145.
- Brull, D.J., Montgomery, H.E., Sanders, J., Dhamrait, S., Luong, L., Rumley, A., Lowe, G.D.O., Humphries, S.E., (2001). Interleukin-6 Gene -174 G>C and -572 G>C promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 21: 1458-1463.
- Burzotta, F., Iacoviello, L., Castelnovo, A.D., Glieca, F., Luciani, N., Zamparelli, R., Schiavello, R, Donati, M.B., Maseri, A., Possati, G.F., Andreotti, F., (2001). Relation of the -174 G/C polymorphism of interleukin-6 to interleukin-6 plasma levels and to length of hospitalization after surgical coronary revascularization, *The American Journal of Cardiology*, 88: 1125-1128.
- Drouet, L., (2002). Atherothrombosis as a systemic disease, *Cerebrovascular Diseases*, 13(Suppl.1): 1-6.
- Elsaid, A., Abdel-Aziz, A.F., Elmougy, R., Elwaseef, A.M., (2014). Association of polymorphisms G (-174) C in IL-6 gene and G (-1082) A in IL-10 gene with traditional cardiovascular risk factors in patients with coronary artery disease, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 51: 282-292
- Emonts, M., Veenhoven, R.H., Wiertsema, S.P., Houwing-Duistermaat, J.J., Walraven, V., Groot, R.D., Hermans, P.W.M., Sanders, E.A.M., (2007). Genetic polymorphisms in immunoresponse genes TNFA, IL-6, IL-10, and TLR4 are associated with recurrent acute otitis media, *Pediatrics*, 120: 814-823.
- Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J.S., Humphries, S., Woo, P., (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis, *The American Society for Clinical Investigation*, 102: 1369-1376.

- Galimudi, R.K., Spurthi, M.K., Padala, C., Kumar, K.G., Mudigonda, S., Reddy, S.G., Aiyengar, M.T., Sahu, S.K., Rani, S.H., (2013). Interleukin-6 (-174 G/C) variant and its circulating levels in coronary artery disease patients and their first degree relatives, *Inflammation*, 37: 314-321.
- Gatti, L.L., Burbano, R.R., Zambaldi-Tunes, M., Labio, R.W.D., Assumpção, P.P.D., Cardoso-Smith, M.D.A., Marques-Payao, S.L., (2007). Interleukin-6 polymorphisms *Helicobacter pylori* infection in adult Brazilian patients with chronic gastritis and gastric adenocarcinoma, *Archives of Medical Research*, 38: 551-555.
- Goyenechea, E., Parra, D., Martínez J.A., (2007). Impact of interleukin-6 -174 G>C polymorphism on obesity-related metabolic disorders in people with excess in body weight, *Metabolism Clinical and Experimental*, 56: 1643-1648.
- Gündoğdu, F., Özdemir, Ö., Sevimli, S., Açikel, M., Pirim, İ., Karakelleoğlu, Ş., Arslan, Ş., Serdar S., (2007). Akut koroner sendromlu hastalarda koroner arter hastalığının ciddiyeti ile interleukin-6 polimorfizmi arasındaki ilişki, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 35 (5): 278-283.
- Halverstadt, A., Phares, D.A., Roth, S., Ferrell, R.E., Goldberg, A.P., Hagberg, J.M., (2005). Interleukin-6 genotype is associated with high-density lipoprotein cholesterol responses to exercise training, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1734: 143-151.
- Hansson, G., (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease, *The New England Journal of Medicine*, 352: 1685-1695.
- Humphries, S.E., Luong, L.A., Ogg, M.S., Hawe, E., Miller, G.J., (2001). The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men, *European Heart Journal*, 22: 2243-2252.
- Hurme, M., Lehtimäki, T., Jylhä, M., Karhunen, P.J., Hervonen, A., (2005). Interleukin-6 -174 G/C polymorphism and longevity: a follow-up study, *Mechanisms of Ageing and Development*, 126: 417-418.
- Illig, T., Bongardt, F., Schöpfer, A., Müller-Schölze, S., Rathmann, W., Koenig, W., Thorand, B., Vollmert, C., Holle, R., Kolb, H., Herder, C., (2004). Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C -174 G and A -598 G

- with type 2 diabetes, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(10): 5053-5058.
- Jeng, J.R., Wang, J.H., Liu, W.S., Chen, S.P., Chen, M.Y.C., Wu, M.H., Hsu, W.L., Lin, S.Z., (2005). Association of interleukin-6 gene G -174 C polymorphism and plasma plasminogen activator inhibitor-1 level in Chinese patients with and without hypertension, *The American Journal of Hypertension*, 18: 517-522.
- Jha, H.C., Divya, A., Prasad, J., Mittal, A., (2010). Plasma circulatory markers in male and female patients with coronary artery disease, *Heart & Lung*, 39 (4): 296-303.
- Libby, P., (2000). Changing concepts of atherogenesis, *Journal of Internal Medicine*, 247: 349-358.
- Licastro, F., Grimaldi, L.M.E., Bonafè, M., Martina, C., Olivieri, F., Cavallone, L., Giovaniotti, S., Masliah, E., Franceschi, C., (2003). Interleukin-6 gene alleles affect the risk of alzheimer's disease and levels of the cytokine in blood and brain, *Neurobiology of Aging*, 24: 921-926.
- Lu, K.C., Jaramillo, A., Lecha, R.L., Schuessler, R.B., Aloush, A., Trulock, E.P., Mendeloff, E.N., Huddleston, C.B., Patterson, G.A., Mohanakumar, T., (2002). Interleukin-6 and interferon γ gene polymorphisms in the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation, *Transplantation*, 74(9): 1297-1302.
- Lusis, A. J., (2000). Atherosclerosis, *Nature*, 14; 407(6801): 233-241.
- Ma, Y., Tang, R., Yang, X., Peng, G., Liu, Y., Wang, X., Wu, B., Yu, J., (2011). Lack of an association between interleukin-6 gene promoter polymorphisms (-174 G/C,-572 G/C) and ischemic heart disease and/or ischemic stroke: A meta-analysis, *Human Immunology*, 72: 641-651.
- Merino, A., Gayá, A., Segura, I., Calvo, J., Imizcoz, C., Berenguel, A., Alegria, E., (2004). Platelet aggregation inhibition blocks C-reactive protein and interleukin-6 (IL-6) elevation after the coronary angioplasty: effect of the -174 G/C IL-6 gene polymorphism, *The American Journal of Cardiology*, 94: 1300-1303.
- Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F., (1998). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acids Research*, 16(3): 1215.

- Moscovis, S.M., Gordon, A.E., Al Madani, O.M., Gleeson, M., Scott, R.J., Roberts-Thomson, J., Hall, S.T., Weir, D.M., Busuttil, A., Blackwell, C.C., (2006). IL-6 G-174 C associated with sudden infant death syndrome in a caucasian Australian cohort, *Human Immunology*, 67: 819-825.
- Nauck, M., Winkelmann, B.R., Hoffmann, M.M., Böhm, B.O., Wieland, H., März, W., (2002). The interleukin-6 G (-174) C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction, *Journal of Molecular Medicine*, 80: 507-513.
- Onat, A., Yüksel, M., Koroğlu, B., Gümrükçüoğlu, H.A., Aydın, M., Çakmak, H.A., (2013). TEKHARF: Genel ve koroner mortalite ile metabolik sendrom prevalansı eğilimleri, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 41: 1-3.
- Opdala, S.H., Rognum, T.O., (2007). The IL-6 -174 G/C polymorphism and sudden infant death syndrome, *Human Immunology*, 68: 541-543.
- Rios, D.L.S., Cerqueira, C.C.S., Bonfim-Silva, R., Araújo L.J., Pereira, J.F., Gadelha, S.R., Barbosa, A.A.L., (2010). Interleukin-1 beta and interleukin-6 gene polymorphism associations with angiographically assessed coronary artery disease in Brazilians, *Cytokine*, 50: 292-296.
- Roeb, E., Graeve, L., Müllberg, J., Matern, S., Rose-John, S., (1994). TIMP-1 protein expression is stimulated by IL-1 beta and IL-6 in primary rat hepatocytes, *Federation of European Biochemical Societies*, 349: 45-49.
- Ross, R., (1999). Atherosclerosis an inflammatory disease, *The New England Journal of Medicine*, 340: 115-126.
- Sanders, J., Hawe, E., Brull, D. J., Hubbart, C., Lowe, G.D.O., Rumley, A., Humphries S. E., Montgomery, H. E. (2009). Higher IL-6 levels but not IL-6 -174 G>C or -572 G> C genotype are associated with post-operative complication following coronary artery bypass graft (CABG) surgery, *Atherosclerosis*, 204: 196-201.
- Satti, H.S., Hussain, S., Javed, Q., (2013). Association of interleukin-6 gene promoter polymorphism with coronary artery disease in Pakistani families, *The Scientific World Journal*, Volume 2013, Article ID 538365, 6 pages.
- Sawczenko, A., Azooz, O., Paraszczuk, J., Idestrom, M., Croft, N.M., Savage, M.O., Ballinger, A.B., Sanderson, I.R., (2005). Intestinal inflammation-induced growth retardation acts through IL-6 in rats and depends on the -174 IL-6 G/C

- polymorphism in children, *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 102 (37): 13260-13265.
- Shaw, L.J., Shaw, R.E., Merz, C.N.B., Brindis, R.G., Klein, L.W., Nallamothu, B., Douglas, P.S., Krone, R.J., McKay, C.R., Block, P.C., Hewitt, K.R.N., Weintraub, W.S., Peterson, E.D. (2008). Impact of ethnicity and gender differences on angiographic coronary artery disease prevalence and in-hospital mortality in the american college of cardiology, National Cardiovascular Data Registry, *Circulation*, 117: 1787-1801.
- Sie, M.P.S., Sayed-Tabatabaei, F.A., Oei, H.H.S., Uitterlinden, A.G., Pols, H.A.P., Hofman, A., Duijn, C.M.V., Witteman, J.C.M., (2006). Interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism and risk of coronary heart disease : results from the Rotterdam study and a meta-analysis, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26: 212-217.
- Stephens, J.V., Hurel, S.J., Cooper, J.A., Acharya, J., Miller, G.J., Humphries, S.E., (2004). A common functional variant in the interleukin-6 gene is associated with increased body mass index in subjects with type 2 diabetes mellitus, *Molecular Genetics and Metabolism*, 82: 180-186.
- Tan, D., Wu, X., Hou, M., Lee, S.O., Lou, W., Wang, J., Janarthana, B., Nallapareddy, S., Trump, D.L., Gao, A.C., (2005). Interleukin-6 polymorphism is associated with more aggressive prostate cancer, *The Journal Of Urology*, 174: 753-756.
- Teixeira, B.C., Lopes, A.L., Macedo, R.C.O., Correa, C.S., Ramis, T.R., Ribeiro, J.L., Reischak-Oliveira, A., (2014). Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk, *Jornal Vascular Brasileiro*, 13 (2): 108-115.
- Terry, C.F., Loukaci, V., Green, F.R., (2000). Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin-6 transcriptional regulation, *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 18138-18144.
- Tonet, A.C., Karnikowski, M., Moraes, C.F., Gomes, L., Karnikowski, M.G.O., Córdova, C., Nóbrega, O.T. (2008). Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41: 47-53.

- Trevelyan, J., Brull, D.J., Needham, E.W.A., Montgomery, H.E., Morris, A., Mattu, R.K., (2004). Effect of *Enalapril* and *Losartan* on cytokines in patients with stable angina pectoris awaiting coronary artery bypass grafting and their interaction with polymorphisms in the interleukin-6 gene, *The American Journal of Cardiology*, 94: 564-569.
- Vaxillaire, M., Veslot, J., Dina, C., Proença, C., Cauchi, S., Charpentier, G., Tichet, J., Fumeron, F., Marre, M., Meyre, D., Balkau, B., Froguel, P., (2008). Impact of common type 2 diabetes risk polymorphisms in the DESIR prospective study, *Diabetes*, 57 (1): 244-254.
- Vickers, M.A., Green, F.R., Terry, C., Mayosi, B.M., Julier, C., Lathrop, M., Ratcliffe, P.J., Watkins, H.C., Keavney, B., (2002). Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein, *Cardiovascular Research*, 53: 1029-1034.
- Wieser, F., Fabjani, G., Tempfer, C., Schneeberger, C., Sator, M., Huber, J., Wenzl, R., (2003). Analysis of an interleukin-6 gene promoter polymorphism in women with endometriosis by pyrosequencing, *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 10(1): 32-36.
- Wypasek, E., Undas, A., Maciejewska, M.S., Kapelak, B., Plicner, D., Stepień, E., Sadowski, J. (2010). The increased plasma C-reactive protein and interleukin-6 levels in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery are associated with the interleukin-6 -174G>C gene polymorphism, *Annals of Clinical Biochemistry*, 47:343-349.
- Yıldırım Yaroğlu, H., Muşlu N., Ünal N., Ayaz L., Yılmaz, D., Polat, G., Tamer Gümüş L., (2009). Koroner arter hastalarında IL-6, IL-2R ve IGFBP-3 düzeylerinin araştırılması, *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2 (3): 28-31.
- Yin, Y., Hu, A., Sun, Q., Liu, H., Wang, Q., Zeng, Y., Xu, R., Hou, Z., Zhang, Z., Zhang, S., Zhou, M., (2012). Association between interleukin-6 gene -174 G/C polymorphism and the risk of coronary heart disease: A meta-analysis of 20 studies including 9619 cases and 10,919 controls, *Gene*, 503 (1): 25-30.
- Yin, Y., Li, J., Zhang, M., Wang, J., Li, B., Liu, Y., Liao, S., Zhang, M., Gao, C., Zhang, L., (2013). Influence of interleukin-6 gene -174G>C polymorphism on

development of atherosclerosis: A meta-analysis of 50 studies involving, 33,514 subjects, *Gene*, 529 (1): 94-103.

Zheng, G., Chen, H., Xiong, S., (2012). Polymorphisms of -174 G>C and -572 G>C in the interleukin-6 (IL-6) gene and coronary heart disease risk: a meta-analysis of 27 research studies, *PLoS One*, 7 (4): e34839.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yunus KÜÇÜKKAYA
Doğum Yeri : Adıyaman
Doğum tarihi : 07.12.1981
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Adıyaman İmam Hatip Lisesi (1997 – 2000)
Lisans : Karadeniz Teknik Üniversitesi, Giresun Fen-Edebiyat
Fakültesi Biyoloji Bölümü (2001 – 2003),
İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji
Bölümü (2003 – 2005)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

: Adıyaman Özel Gözde Tıp Merkezi (2005-2006)
: Adıyaman Eğitim ve Araştırma Hastanesi (2007-.....)

Yayınları (SCI ve diğer)

Bayramoglu, A., Urhan Kucuk, M., Ercan, S., Abaci, O., Guler, H.I.,
Kucukkaya, Y., Korkmaz, M.C., (2012). Hypertension and matrix
metalloproteinase-9 enzyme activity, Journal of Selçuk University
Natural and Applied Science, 3: 3.

Yılmaz, S., Kara, C., Güneş, H., Gürlek, M.E., Küçükkaya, Y., (2014).
Adıyaman bölgesindeki (*Cyprinion macrostomus*, Heckel, 1843)'un
bazı biyokimyasal kan parametrelerinin referans aralıklarının
belirlenmesi, Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 4 (2): 68-
81.

- Karaman, E., Urhan Kucuk, M., Bayramoglu, A., Uzun Göçmen, S., Ercan, S., Guler, H.I., Kucukkaya, Y., Erden, S., (2015). Investigation of relationship between IL-6 gene variants and hypertension in Turkish population, *Cytotechnology*, 67(6): 947-954.
- Bayramoglu, A., Urhan Kucuk, M., Guler, H.I., Abaci, O., Kucukkaya, Y., Colak, E., (2015). Is there any genetic predisposition of MMP-9 gene C1562T and MTHFR gene C677T polymorphisms with essential hypertension?, *Cytotechnology*, 67(1): 115-122.
- Urhan Kucuk, M., Bayramoglu, A., Uzun Gocmen, S., Kucukkaya, Y., Abaci, O., Guler, H.I., Arpacı, A., Korkmaz, M.C., (2016). MTHFR and MMP-9 genetic variants in coronary artery disease, *Dicle Medical Journal*, 43 (1): 50-56.