



Kardiyak Sendrom X Hastalarında CYP2J2 Polimorfizminin Belirlenmesi

Detection of CYP2J2 Polymorphism in Cardiac Syndrome X Patients

Melissa Tatlıdil Akal¹, Burak Önal², Deniz Özen¹, Bülent Demir³, Ahmet Gökhan Akkan¹, Sibel Özyazgan¹

¹İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı; ²Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı; ³İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

ABSTRACT

Aim: Cardiac Syndrome X patient population is defined as typical angina with detected ischemia in non-invasive tests and normal epicardial coronary arteries in coronary angiography. The increase in CRP levels and other inflammatory markers in CSX patients indicates that the disease has an inflammatory pathogenesis. CYP2J2, a cytochrome P450 enzyme, is expressed in high amounts in the coronary artery endothelium, smooth muscle cells and cardiomyocytes. The main role of CYP2J2 is derivation of arachidonic acid into 4 different types of epoxyeicosatrienoic acids (EET), which are 5,6-, 8,9-, 11,12- 14,15-. These EETs inhibit formation of the inflammatory response by decreasing endothelial expression of TNF- α induced VCAM-1 and reduce the adhesion of leukocytes to vascular endothelium by inhibiting NF- κ B. CYP2J2 gene -76G>T polymorphism causes a decrease in expression of CYP2J2 and its metabolites. In this study, we aimed to investigate the relationship between CSX, in whose pathophysiology inflammation is thought to play a role and CYP2J2 gene -76G>T polymorphism, which is known to be involved in inflammatory response.

Material and Method: We compared consecutive 125 CSX patients and 125 healthy individuals in terms of CYP2J2 gene -76G>T polymorphism. The genotyping of the polymorphism was applied by using real time-PCR method.

Results: There was no statistically significant difference between the patients and the control when TT, GT and GG genotypes were analyzed ($p>0,05$).

Conclusion: It is suggested that CYP2J2 -76G>T polymorphism does not play an important role in the pathogenesis of CSX.

Key words: cardiac syndrome X; inflammation; CYP2J2; polymorphism; microvascular dysfunction

ÖZET

Amaç: Tipik anjinaya sahip, invaziv olmayan testlerde iskemi bulgusuna rastlanan ve koroner anjiyografide normal epikardiyal koroner arterlere sahip hasta popülasyonu Kardiyak Sendrom X (KSX) olarak tanımlanmaktadır. KSX hastalarında CRP ve diğer inflamatuvar belirteçlerin düzeylerinin artması, hastalığın inflamasyon aracılı bir patogeneze sahip olduğunu gösterir niteliktedir. Sitokrom P450 enzimi olan CYP2J2, koroner arter endoteli, düz kas hücreleri ve kardiyomiyositlerde yüksek düzeylerde eksprese edilen bir hem protein ailesi üyesidir. CYP2J2'nin başlıca görevi, araşidonik asidin; 5,6- 8,9- 11,12- 14,15- olmak üzere 4 farklı çeşit epoksie-koatrienoik asitlere (EET) dönüşümünü sağlamaktır. Bu EET'ler, TNF- α ile uyarılan VCAM-1'in, endotelial ekspresyonunu azaltarak inflamatuvar yanıt oluşumunu baskılamakta ve NF- κ B'yi de inhibe ederek vasküler duvara lökosit adezyonunu azaltmaktadır. CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi, hücre içerisinde CYP2J2 ve metabolitlerinin ekspresyonunda düşüğe neden olmaktadır. Biz bu çalışmamızda, patofizyolojisinde inflamatuvar süreçlerin etkili olduğu düşünülen KSX hastalığı ile inflamatuvar yolla rol aldığı bilinen CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi arasındaki bağlantıyı incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: Ardışık 125 KSX hastası ve 125 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunu, CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi açısından karşılaştırdık. DNA örneklerinden CYP2J2 geni -76G>T polimorfizminin genotipleme gerçek zamanlı PCR metodu kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Hasta ve kontrol gruplarında görülen TT, GT ve GG genotipleri incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Sonuç: Bu durum KSX hastalığının patogenezinde, inflamasyon artışına neden olan CYP2J2 geni -76G>T polimorfizminin önemli bir rolü olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: kardiyak sendrom X; inflamasyon; CYP2J2; polimorfizm; mikrovasküler disfonksiyon

İletişim/Contact: Sibel Özyazgan, İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye • **Tel:** 0532 674 02 04 • **E-mail:** ozyazgans@yahoo.com • **Geliş/Received:** 07.05.2019 • **Kabul/Accepted:** 19.07.2019

ORCID: Melissa Tatlıdil Akal, 0000-0003-3607-0732 • Burak Önal, 0000-0002-7846-875X • Deniz Özen, 0000-0002-3095-1208 • Bülent Demir, 0000-0003-1767-408X • Ahmet Gökhan Akkan, 0000-0002-6799-1721 • Sibel Özyazgan, 0000-0002-2511-3541

Giriş

Tipik anjina ve iskemi bulgularına rağmen, uygulanan koroner anjiyografide, koroner arterlerin normal olarak izlendiği klinik tablo; Kardiyak Sendrom X (KSX) olarak tanımlanmaktadır. KSX patofizyolojisi, net olarak aydınlatılmamış olsa da, inflamasyon, endotelial ve mikrovasküler disfonksiyonun etkili olabileceği düşünülmektedir¹⁻³.

İnflamatuvar süreç, endotelial hücrelerin koruyucu yolunu bozarak, farklılaşan monositlerin mediaya invazyonunu kolaylaştırır ve aterotrombotik sürece katkıda bulunur⁴. KSX 'in C-reaktif protein (CRP), monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), interlökin-6 (IL-6) ve IL-10 gibi inflamasyon belirteçleri ile ilişkisi gösterilmiştir⁵⁻⁸. CRP plazma düzeylerinin, endotelial hücre aktivasyonu ve koroner endotelial disfonksiyon ile ilişkili olduğu bilinmektedir^{9,10}. KSX patogenezinde, artan CRP düzeyleri ile beraber endotelial disfonksiyon ve artmış endotelin-1 (ET-1) ekspresyonuna bağlı olarak azalmış nitrik oksit (NO) biyoyararlanımı; mikrovasküler anjina ve sistemik endotelial vazoreaktivitenin bozulmasında rol oynayabilir^{11,12}. CRP konsantrasyonlarının, KSX hastalarının koroner arterlerindeki intima media kalınlığı ile korelasyonu olduğunun gösterilmesi, bu hastalarda koroner anjiyografideki normal bulgulara rağmen bozulmuş arteriyel duvar yapısını ve bu hastalardaki aterosklerotik yükü doğrular niteliktedir¹³.

CYP monoooksijenaz enzim sistemleri, ökaryot ve prokaryotlarda bulunan, çok geniş bir hem protein ailesidir¹⁴. CYP2J2 ise, en yaygın bulunan ve işlevsel olarak önemli CYP epoksijenaz izoformlarından biridir ve predominant olarak araşidonik asidi (AA), 5,6-, 8,9-, 11,12- ve 14,15- Epoksieikozatrienoik asit (EET) olmak üzere dört farklı biyolojik olarak aktif EET'ye dönüştürür. Bu AA kaynaklı EET'lerin kuvvetli endojen vazodilatör, antioksidan ve inflamasyon inhibitörleri olduğu ve altında yatan mekanizmanın ise proinflatuvar bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kapp B'nin (Nf-κB) inhibisyonuna dayalı olduğu gösterilmiştir¹⁵.

CYP2J2 ekspresyonunda meydana gelen farklılıkların sebebi temel olarak CYP2J2 geni-76G >T polimorfizmi gibi tek nükleotid polimorfizmidir ve hücre içinde CYP2J2 ve metabolitlerinin ekspresyonunda düşüşe neden olmaktadır¹⁶. Bu düşüşe bağlı olarak antiinflatuvar EET'lerin sentezinin azalması, CYP2J2 geni-76G>T polimorfizmini birçok patolojik duruma dahil

etmektedir¹⁷. CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi ile ilgili yapılan çalışmalar, patofizyolojisinde inflamasyonun da rol oynadığı bilinen koroner arter hastalığı gibi kardiyovasküler hastalıklar üzerine yoğunlaşmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir¹⁸.

Biz bu çalışmamızda, patofizyolojisinde inflamasyonun rol oynadığı düşünülen KSX hastalığı ile birçok kardiyovasküler hastalık patogenezinde rol aldığı bilinen CYP2J2 geni-76G>T polimorfizminin arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot

Çalışmamızda, katılımcılardan alınan periferik kan örneklerinden elde edilen genomik DNA üzerindeki CYP2J2 geni -76G>T polimorfizminin belirlenmesi amacı ile gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) yöntemi kullanılarak genotipleme yapıldı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca onaylanan (Onay No: 02-68997) çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Farmakogenetik laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya katılan tüm bireylerden Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu imzası alındı ve tüm katılımcılar Dünya Sağlık Örgütü'nün Helsinki Deklarasyonunda belirtilen etik standartlara uygun şekilde çalışmaya dahil edildi.

Hasta Seçimi

Çalışmamızda, ESC 2006 stabil angina kılavuzu kriterlerine göre tanısı konulmuş, ardışık 125 KSX hastası (yaş ortalaması 53,1±11,0) ve benzer demografik özelliklere sahip framingham risk skoruna göre 10 yıllık kardiyak olay geçirme oranı %10'nun altında olan ardışık 125 sağlıklı kontrol bireyden (yaş ortalaması 51,1±11,6) oluşan toplam 250 katılımcı yer almaktadır. Hasta ve kontrol bireylerin tanısı Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji kliniğinde konulmuştur.

Genotipleme

Hasta ve sağlıklı kontrol bireylerden K3-EDTA'lı steril tüplere alınan periferik kan örnekleri, DNA izolasyonu gerçekleştirilene dek -20°C'de muhafaza edildi. Genomik DNA izolasyonu, Invitrogen PureLink Genomik DNA Kiti (katalog numarası: K1820-02) içerisinde bulunan protokole uygun olarak yapıldı. Her birey için 200 µl periferik kan örneği kullanıldı.

Tablo 1. Hedef dizi ve alleller için tanımlanan VIC/FAM boyları

Hedef Dizi [VIC (A alleli)/FAM (C alleli)]
GACAGGCGACGGTCCCGGCCCGCCT[A/C]GCTCCCAGCCGTGCCCGCCCTCCCA

İzole edilen DNA örneklerinin saflığı ve konsantrasyonu Thermo Scientific NanoDrop 2000 Spektrofotometre kullanılarak yapıldı. DNA saflığı 260 nm/280 nm Optik Dansite (OD) değeri oranı ile, DNA konsantrasyonu ise 260 nm'deki OD değeri ile tespit edildi. Saf olarak izole edilen tüm DNA örnekleri, genotipleme işlemi yapılabildiği 20°C'de muhafaza edildi.

qPCR yöntemi, TaqMan® Genotyping Master Mix (4381657) ile Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System cihazı ile uygulandı. Genotip analizi TaqMan® SNP Genotyping Assay (rs890293) kitinin protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Polimorfik bölgeler VIC ve FAM boyları kullanılarak, bölgeye spesifik TaqMan® problemleri ile belirlendi (Tablo 1).

PCR döngüsünün ilk adımı olan başlangıç denatürasyonu 95°C'de 10 dakika boyunca gerçekleştirildi. Ardından 95°C'de 15 saniye boyunca denatürasyon, 60°C'de 1 dakika boyunca eşleşme ve sentez aşamaları bir döngü halinde 35 defa tekrar edildi. Son aşamadaki 1 dakika boyunca 60°C'de son sentez işleminin ardından, genotipleme sonuçları elde edildi.

İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analiz SPSS 22.0 yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan, en düşük, en yüksek değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildi. Nicel verilerin analizinde bağımsız örneklem t testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Bulgular

CYP2J2 geni -67G>T polimorfizminin Kardiyak Sendrom X'teki rolünü araştırdığımız çalışmada; hasta grubunda, kadın hasta oranı kontrol grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksek bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubunda yaş, BMI değeri ve sigara kullanım oranı anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermemiştir (Tablo 2).

Hasta grubunda AKŞ ve üre değeri kontrol grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksek görülmüş, ALT değeri ise anlamlı ($p<0,05$) olarak daha düşük belirlenmiştir. Hasta ve kontrol grubunda AST, kreatinin, GGT, HDL, HGB, LDL, MPV, PLT, TG, total kolesterol ve ürik asit değeri anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermemiştir (Tablo 3).

Hasta grubunda; DM, HT, KKB kullanımı, aile öyküsü (AÖ), ARB/ACE inhibitörü kullanımı, beta bloker kullanımı ve statin kullanım oranları, kontrol grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksek görülmüştür (Tablo 4).

KSX hastaları ve kontrol grubu arasında, CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi, genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p>0,05$) bulunmamıştır (Tablo 5).

KSX hastalarının allel dağılımları incelendiğinde, major allel G ve minör allel T frekansları sırasıyla %90,2 ve %9,8 belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise, major allel G ve minör allel T frekansları sırasıyla %93,9 ve %6,1 olarak tespit edilmiştir. Toplam birey sayısı baz alındığında allel dağılımı; G alleli için %92 T alleli için ise %8 olarak bulunmuştur (Tablo 6).

Tartışma

Primer mortalite nedeni olarak kardiyovasküler hastalıklar; günümüzde primer mortalite nedeni olarak kabul edilmektedir ve en sık görülen türü de koroner arter hastalığıdır (KAH). KAH'a sahip olduğu düşünülerek koroner anjiyografi yapılan olguların ise yaklaşık %20-30'unda koroner arterlerin normal yapıda olduğu saptanmaktadır^{19,20}. Günümüzde tipik anjinası olan ve non-invaziv testlerde iskemiye rastlanan; ancak koroner anjiyogramları normal olarak değerlendirilen hasta popülasyonuna, Kardiyak Sendrom X (KSX) veya mikrovasküler anjina tanısı konulmaktadır¹⁻³.

Yapılan birçok çalışma, KSX'in görülme sıklığının kadınlarda daha yüksek olduğunu göstermiştir. İskemik kalp hastalığı şüphesi ile ilk kez kardiyak katerizasyon uygulanan 32,856 hasta ile gerçekleştirilen bir çalışmada, anjiyografi sonrasında normal koroner arterlere sahip olma oranı kadınlarda %23,3 iken erkeklerde bu oran %7,1 olarak bulunmuştur²¹. Anjina şikayeti ile anjiyografiye alınan 886 hastada yapılan başka bir çalışmada ise, normal koroner arterlere sahip olma oranı, kadınlarda %41 iken, erkeklerde %8 olarak belirlenmiştir²². Ayrıca, perimenapozal ve postmenapozal kadınlarda tıkalı KAH olmaksızın anjina görülmesi, kadınlarda

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubunda BMI karşılaştırması

		Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p
		Ort.±s.s./n - %	Med (Min-Mak)	Ort.±s.s./n - %	Med (Min-Mak)	
Yaş		53,1±11,0	54 (17-75)	51,1±11,6	50 (25-77)	0,093
Cinsiyet	Kadın	80 / %68		63 - %51		0,007
	Erkek	37 - %32		60 - %49		
BMI		24,3±2,7	24 (19-32)	24,9±2,3	25 (20-33)	0,070
Sigara	Kullanmıyor	84 - %72		96 - %78		0,263
	Kullanıyor	33 - %28		27 - %22		

Ki-kare test/Mann-Whitney U test. BMI, vücut kitle indeksi

Tablo 3. Hasta ve kontrol bireylere ait demografik veriler

	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p
	Ort. ± s. s.	Med (Min-Mak)	Ort. ± s. s.	Med (Min-Mak)	
AKŞ	102,2±29,9	96 (72-266)	91,7±10,7	91 (72-137)	0,008
ALT	20,0±15,0	17 (7-152)	23,9±14,5	20 (8-91)	0,007
AST	20,6±7,7	19 (6-74)	21,9±10,2	19 (11-103)	0,434
Kreatinin	0,9±1,1	1 (0-9)	0,7±0,1	1 (0-1)	0,372
GGT	25,1±18,1	21 (9-156)	25,7±12,4	23 (7-74)	0,120
HDL	48,0±14,0	47 (24-129)	48,0±19,9	44 (29-179)	0,174
HGB	12,9±1,6	13 (5-16)	13,2±1,5	13 (7-17)	0,215
LDL	125,8±41,0	121 (14-254)	126,2±34,4	120 (44-224)	0,675
MPV	8,7±1,2	8 (6-14)	8,6±0,9	9 (7-11)	0,688
PLT	249,8±54,4	249 (137-398)	260,9±57,4	248 (131-477)	0,268
TG	146,3±89,5	123 (41-603)	133,3±65,1	129 (17-382)	0,792
Total Kolesterol	202,4±43,6	200 (101-343)	203,8±39,0	205 (52-292)	0,797
Üre	32,7±14,9	31 (4-132)	28,6±7,7	29 (12-49)	0,017
Ürik Asit	4,8±1,4	5 (2-10)	5,0±1,4	5 (1-8)	0,338

Bağımsız örneklem t test/Mann-Whitney U test. AKŞ, açlık kan şekeri; ALT, alanin aminotransferaz; AST, aspartat aminotransferaz; GGT, gama-glutaril transferaz; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; HGB, hemoglobin, LDL; düşük yoğunluklu lipoprotein; MPV, ortalama platelet hacmi; PLT, platelet sayısı; TG, trigliserid.

Tablo 4. Hasta ve kontrol bireylere ait demografik veriler

		Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p
		n	%	n	%	
DM	Yok	95	81	119	97	0,000
	Var	22	19	4	3	
HT	Yok	82	70	103	84	0,012
	Var	35	30	20	16	
KKB	Kullanmıyor	101	86	113	92	0,167
	Kullanıyor	16	14	10	8	
AÖ	Yok	68	58	97	79	0,001
	Var	49	42	26	21	
ARB/ACE İnhibitörü	Kullanmıyor	95	81	109	89	0,108
	Kullanıyor	22	19	14	11	
Beta Bloker	Kullanmıyor	96	82	111	90	0,065
	Kullanıyor	21	18	12	10	
Statin	Kullanmıyor	89	76	95	77	0,831
	Kullanıyor	28	24	28	23	

Ki-kare test. DM, diabetes mellitus; HT, hipertansiyon; KKB, kalsiyum kanal blokeri; AÖ, aile öyküsü; ARB/ACE inhibitörü, anjiyotensin II reseptör blokeri/anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü.

Tablo 5. Hasta ve kontrol bireylerde CYP2J2 geni-76G >T polimorfizmi genotip dağılımı

		Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p
		n	%	n	%	
CYP2J2 Genotipi	TT	2	2	1	1	1,000
	GT	19	16	13	11	0,270
	GG	96	82	109	89	0,208

ki-kare test

Tablo 6. Hasta ve kontrol bireylerde CYP2J2 geni-76G >T polimorfizmi allel dağılımı

		Hasta Grubu		Kontrol Grubu		Total	
		n	%	n	%	n	%
Allel	T	23	9,8	15	6,1	38	8
	G	211	90,2	231	93,9	442	92

ki-kare test

risk oranının erkeklere oranla daha yüksek olduğunu göstermiştir²³. Bizim çalışmamızda ise, söz konusu araştırmalara paralel olarak, KSX hastalarındaki kadın birey sayısı, kontrol grubundaki kadın birey sayısına oranla anlamlı derecede yüksek ($p < 0,05$) bulunmuştur.

KSX hastalarında, hipertansiyon (HT) ve insülin direnci gibi hastalıkların arka planda görülme sıklığı oldukça yüksektir²⁴. Birçok çalışmada hiperinsülineminin, KSX hastalarında, kontrol grubuna göre daha yaygın olarak görüldüğü belirlenmiştir^{25,26}. Bizim çalışmamızda da bu sonuçlara paralel olarak, hasta grubunda DM ve HT görülme oranı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p < 0,05$) bulunmuştur.

Kronik inflamasyonun belirteci olan CRP, MCP-1, ve IL-6'nın KSX ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir. CRP'nin, VCAM-1 ve endotelin-1 ekspresyonunun artışı sonucu NO biyoyararlanımını azaltarak, KSX'teki endotel aktivasyonunun sebebi olduğu öne sürülmektedir. KSX hastalarında CRP seviyelerinin yükseldiği ve bu durumun, hem miyokardiyal iskeminin elektrokardiyogram bulguları, hem de klinik hastalık aktiviteleri ile korelasyon gösterdiği görülmüştür^{27,28}. KSX hastaları ile kontrol bireylerin inflamasyon tablolarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, sistemik inflamasyon düzeyinin KSX hastalarında kontrol bireylere oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir²⁹.

Sitokrom P450 (CYP) enzim ailesi, araşidonik asidi, EET'lere dönüştürmekte ve böylelikle antiinflamatuvar etki göstermektedir¹⁵. EET'lerin fizyolojik

konsantrasyonları; TNF- α ile uyarılmış endotelial hücreler VCAM-1 ekspresyonu ve VCAM-1 aktivitesini azaltarak, inflamatuvar yanıtı baskılar ve NF- κ B'yi de inhibe ederek lökositlerin vasküler duvara adezyonunu azaltır¹⁵. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bilgiler, ateroskleroz patogenezinde yer alan inflamatuvar süreçte CYP enzimlerinin önemli rol oynadığına dair kanı oluşturmaktadır. Ateroskleroz başlangıcı, vasküler endotelial hücrelerin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir³⁰. Endotelial hücreler aktive olduktan sonra ise VCAM-1, E-selektin ve ICAM-1 gibi lökositlerin endotele adezyonunu sağlayan hücre yüzey moleküllerini eksprese ederler³¹. NF- κ B'nin uyarımı ile gerçekleşen süreç sonrasında, damar duvarındaki hücrelerde bulunan adezyon molekülleri ve sitokinler, kemokinler gibi inflamasyon ile ilişkili molekülleri kodlayan birçok genin transkripsiyonu da regüle olmaktadır³².

CYP2J2 geninde meydana gelen polimorfizmler, araşidonik asit metabolizmasını değiştirerek EET sentezini etkilemektedir³³. -76G>T polimorfizmi; CYP2J2 geninin promotör bölgesinde bulunmaktadır. Söz konusu polimorfizm, transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi Sp1'in kaybı sonucunda EET sentezinin azalmasına sebep olmaktadır¹⁷. Bunun yanında, araşidonik asit metabolizmasında görev alan ve böbrekte de eksprese edilen CYP2J2 enzimi, kalsinörin inhibitörleri ile ilişkili renal hasarda rol almaktadır ve CYP2J2 -76G>T polimorfizminin de renal hasar riski üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir³⁴. Genvigir ve ark. tarafından yapılan çalışmaya göre; CYP2J2 -76T alleli taşıyan ve takrolimus tedavisi gören böbrek transplantasyon hastalarında, bulantı ve kusma yan etkilerinin görülme ihtimali; -76GG genotipine sahip hastalar ile kıyaslandığında 5,30 kat daha yüksektir³⁵. Göğüs kanseri hastalarında yapılan başka bir çalışmada da, CYP2J2 -76G>T polimorfizmi varlığında kemoterapinin yol açtığı hematolojik toksisite riskinin yüksek olduğu saptanmıştır³⁶.

CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi ile, inflamatuvar yanıtın önem taşıdığı KAH, miyokard enfarktüsü (MI), hipertansiyon (HT) gibi kardiyovasküler hastalıklar (KVH) arasındaki ilişki üzerine birçok araştırma yapılmış ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir¹⁸. Spiecker tarafından yapılan bir çalışmada, -76G>T polimorfizminin bir ya da iki kopyasına sahip olmasının, anjiyografik olarak gösterilebilen KAH'a sahip olma riskini artırdığı gösterilmiştir¹⁷. Bunu destekleyecek şekilde Ping Yin Liu da yaptığı bir çalışmada, CYP2J2 geni -76G>T polimorfizminin,

Tayvan'daki genç bireylerde MI görülmesinde önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir³⁷. King ve arkadaşları ise HT riskini araştırdıkları farklı bir çalışmada, söz konusu polimorfizmin HT riski ile ilişkisi olduğunu öne sürmüşlerdir³⁸. Bu çalışmayı destekleyen diğer çalışmalara bakıldığında, *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizminin, Ruslarda³⁹, Çin Han popülasyonunda⁴⁰ ve Suudi popülasyonunda⁴¹ HT riskini artırdığı öne sürülmüştür. Diğer yandan; *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi ve KVH arasında bir ilişki bulunmadığını öne süren çalışmalar da mevcuttur. Lee tarafından yapılan bir çalışmada, *CYP2J2* varyant allellerini taşıyan Afrikan-Amerikan'larda düşük KAH riski belirlenirken, beyaz ırkta anlamlı bir ilişki gözlemlenmemiştir⁴². Hoffmann tarafından yapılmış olan bir başka çalışmada ise *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizminin, KAH veya MI için bir risk faktörü olmadığı gösterilmiştir⁴³. Bu çalışmaların bulgularına paralel nitelikte KVH risk profili gösteren 1000 kişinin katıldığı bir çalışmada, *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizminin, MI gelişiminde önemli bir rolü olmadığı bildirilmiştir⁴⁴.

CYP2J2'nin ateroskleroz ve KAH gibi kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra, Alzheimer Hastalığı gibi inflamatuvar kökeni bulunan hastalıklarla da bağlantılı olduğu bilinmektedir. Geç başlangıçlı Alzheimer hastalığına sahip hastalarla yapılan bir çalışmada, *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi T alleli ve GT+TT genotip frekanslarının, sağlıklı kontrol bireyler ile karşılaştırıldığında hastalarda anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda, hem *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi T allelinin hem de GT+TT genotiplerinin geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığına yakınlıkla ilişkili olduğu anlaşılmıştır⁴⁵.

CYP2J2 geni -76G>T polimorfizmi ile ilgili yapılan çalışmalara ait genotipleme sonuçlarına bakıldığında, hasta ve sağlıklı bireylerdeki GG genotipine sahip birey sayısının, GT ve TT genotipine sahip birey sayısından yüksek olduğu bildirilmektedir. Hoffmann ve ark. yaptıkları çalışmada, GG genotipine sahip bireylerin oranı %87,7; GT genotipine sahip bireylerin oranı %11,9 ve TT genotipine sahip bireylerin oranı da %0,4 olarak bildirilmiştir⁴³. Aynı şekilde Zhu Q ve ark. yaptıkları çalışmada, GG genotipine sahip bireylerin oranı %90,9 iken GT genotipine sahip bireylerin oranı %8,9 ve TT genotipine sahip bireylerin oranı da %0,2 olarak bildirilmiştir⁴⁶. Çalışmamızın genotipleme analizi sonucunda elde ettiğimiz verilere

göre; GG (%85) genotipine sahip bireylerin oranı; yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlara paralellik göstererek GT (%13) ve TT (%1) genotiplerine sahip bireylere oranla daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında; *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizminin toplumlar ve ırklar arası bir farklılık göstermediği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızın allel frekans analizinde, KSX hastalarında G alleli frekansı; %90,2 iken T alleli frekansı ise %9,8 oranında bulunmuştur. Kontrol bireylerde ise G alleli, %93,9 gibi yüksek bir oranda hasta bireylere paralel biçimde bulunurken; T alleli de %6,1 oranında bulunmuştur. Bu bağlamda, toplam birey sayısı baz alındığında allel dağılımı ise G alleli için %92 olarak yüksek bir yüzdede bulunurken T alleli ise %8 olarak düşük bir yüzdede bulunmuştur.

King ve ark., KVH ile *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırdıkları bir çalışmada, beyaz ırktaki allel frekansını T alleli için %8 bulurlarken; G alleli için ise %92 oranında bulmuşlardır¹⁶. Yine King ve ark.'ın; HT ile *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceledikleri bir çalışmada da, beyaz ırk için tespit edilen allel dağılımları, yaptıkları diğer çalışmaya ve bizim yaptığımız çalışmaya da paralel olarak T alleli için daha düşük oranda ve %8 olarak bulunurken G alleli için de daha yüksek oranda; %92 olarak saptanmıştır³⁸. Söz konusu allel dağılımları incelendiğinde, Türk toplumunun diğer beyaz ırk toplumlarına benzer oranda allel dağılımına sahip olduğu görülmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında; farklı popülasyonlarda yapılan çalışmaları da göz önüne aldığımızda, *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi T allel frekansının kısmen de olsa yüksek oranda bulunmasının, bazı inflamatuvar hastalıklara yol açabileceği kanısına varılmaktadır. Bununla ilgili olarak, Çin Han popülasyonunda yapılan ve MI ile *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada; MI geçiren hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki allel dağılımları sırasıyla T: %18 G: %82; T: %12 G: %88 olarak görülmüş ve T allel yüksekliğinin MI ile ilişkisi olduğu öne sürülmüştür³⁷. Afrikan Amerikan popülasyonu ile yapılan farklı çalışmalara baktığımızda ise; T allel frekanslarının, %10⁴⁷, %14³⁸, ve %17¹⁶ gibi kısmen yüksek oranlarda olduğunu görmekteyiz. Bu verilere paralel olarak; *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi ile ateroskleroz arasındaki riskin farklı topluluklar arasında belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada; *CYP2J2*

geni -76G>T polimorfizminin, Afrikan Amerikan topluluğundaki KAH ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı derecede bulunurken; beyaz ırkta da anlamlı bir ilişki gözlemlenmediği bildirilmiştir⁴². Bu çalışmalar, Çin Han popülasyonu ve Afrikan Amerikan popülasyonunda olduğu gibi *CYP2J2* geni -76G>T bölgesinde T allel frekansının yüksek oluşunun, MI ve ateroskleroz gibi inflamatuvar hastalıklarla ilişkisini açıklayabilmektedir.

Çalışmamızda, KSX hastalarının *CYP2J2* geni -76G>T bölgesi genotip dağılımları, kontrol grubu ile kıyaslandığında; istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuç; inflamatuvar yanıtta önemli bir rolü olan *CYP2J2* enzimini kodlayan gen üzerinde bulunan -76G>T polimorfizminin, KSX hastalığının patofizyolojisinde önemli bir etkisinin olmadığını işaret etmektedir. İlerleyen zamanlarda yapılacak olan çalışmalarda, KSX hastalığı ve *CYP2J2* geni -76G>T polimorfizmi arasındaki ilişkinin farklı popülasyonlar arasında incelenmesinin yanı sıra hasta ve kontrol birey sayılarının artırılması ile de daha aydınlatıcı sonuçlar elde edilebileceğini öngörmekteyiz.

Kaynaklar

1. Egashira, K., T. Inou, Y. Hirooka, A. Yamada, Y. Urabe, and A. Takeshita, Evidence of impaired endothelium-dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *N Engl J Med*, 1993. 328(23): p. 1659-64.
2. Quyyumi, A.A., R.O. Cannon, 3rd, J.A. Panza, J.G. Diiodati, and S.E. Epstein, Endothelial dysfunction in patients with chest pain and normal coronary arteries. *Circulation*, 1992. 86(6): p. 1864-71.
3. Vane, J.R., E.E. Anggard, and R.M. Botting, Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med*, 1990. 323(1): p. 27-36.
4. Christodoulidis, G., T.J. Vittorio, M. Fudim, S. Lerakis, and C.E. Kosmas, Inflammation in coronary artery disease. *Cardiol Rev*, 2014. 22(6): p. 279-88.
5. On, Y.K., R. Park, M.S. Hyon, S.K. Kim, and Y.J. Kwon, Are low total serum antioxidant status and elevated levels of C-reactive protein and monocyte chemoattractant protein-1 associated with cardiac syndrome X? *Circ J*, 2005. 69(10): p. 1212-7.
6. Li, J.J., C.G. Zhu, J.L. Nan, J. Li, Z.C. Li, H.S. Zeng, et al., Elevated circulating inflammatory markers in female patients with cardiac syndrome X. *Cytokine*, 2007. 40(3): p. 172-6.
7. Dominguez-Rodriguez, A., P. Abreu-Gonzalez, P. Avanzas, M.A. Gomez, and J.C. Kaski, Elevated circulating soluble form of CD40 ligand in patients with cardiac syndrome X. *Atherosclerosis*, 2010. 213(2): p. 637-41.
8. Demir, B., B. Onal, S. Ozyazgan, C. Kandaz, H. Uzun, G. Aciksari, et al., Does Inflammation Have a Role in the Pathogenesis of Cardiac Syndrome X? A Genetic-Based Clinical Study With Assessment of Multiple Cytokine Levels. *Angiology*, 2016. 67(4): p. 355-63.
9. Pasceri, V., J.T. Willerson, and E.T. Yeh, Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, 2000. 102(18): p. 2165-8.
10. Verma, S., S.H. Li, M.V. Badiwala, R.D. Weisel, P.W. Fedak, R.K. Li, et al., Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation*, 2002. 105(16): p. 1890-6.
11. Maseri, A., F. Crea, J.C. Kaski, and T. Crake, Mechanisms of angina pectoris in syndrome X. *J Am Coll Cardiol*, 1991. 17(2): p. 499-506.
12. Legrand, V., J.M. Hodgson, E.R. Bates, F.M. Aueron, G.B. Mancini, J.S. Smith, et al., Abnormal coronary flow reserve and abnormal radionuclide exercise test results in patients with normal coronary angiograms. *J Am Coll Cardiol*, 1985. 6(6): p. 1245-53.
13. Arroyo-Espliguero, R. and J.C. Kaski, Microvascular dysfunction in cardiac syndrome X: the role of inflammation. *CMAJ*, 2006. 174(13): p. 1833.
14. Gonzalez, F.J., The molecular biology of cytochrome P450s. *Pharmacol Rev*, 1988. 40(4): p. 243-88.
15. Node, K., Y. Huo, X. Ruan, B. Yang, M. Spiecker, K. Ley, et al., Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science*, 1999. 285(5431): p. 1276-9.
16. King, L.M., J. Ma, S. Srettabunjong, J. Graves, J.A. Bradbury, L. Li, et al., Cloning of *CYP2J2* gene and identification of functional polymorphisms. *Mol Pharmacol*, 2002. 61(4): p. 840-52.
17. Spiecker, M., H. Darius, T. Hankeln, M. Soufi, A.M. Sattler, J.R. Schaefer, et al., Risk of coronary artery disease associated with polymorphism of the cytochrome P450 epoxygenase *CYP2J2*. *Circulation*, 2004. 110(15): p. 2132-6.
18. Ma, J., S. Ramachandran, F.T. Fiedorek, Jr., and D.C. Zeldin, Mapping of the *CYP2J* cytochrome P450 genes to human chromosome 1 and mouse chromosome 4. *Genomics*, 1998. 49(1): p. 152-5.
19. Brandon, S., Chest pain in patients with normal coronary arteriograms. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1983. 287(6404): p. 1491-2.
20. Bass, C., C. Wade, D. Hand, and G. Jackson, Patients with angina with normal and near normal coronary arteries: clinical and psychosocial state 12 months after angiography. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1983. 287(6404): p. 1505-8.
21. Humphries, K.H., A. Pu, M. Gao, R.G. Carere, and L. Pilote, Angina with "normal" coronary arteries: sex differences in outcomes. *Am Heart J*, 2008. 155(2): p. 375-81.
22. Sullivan, A.K., D.R. Holdright, C.A. Wright, J.L. Sparrow, D. Cunningham, and K.M. Fox, Chest pain in women: clinical, investigative, and prognostic features. *BMJ*, 1994. 308(6933): p. 883-6.

23. Parsyan, A. and L. Pilote, Cardiac syndrome X: mystery continues. *Can J Cardiol*, 2012. 28(2 Suppl): p. S3-6.
24. Jadhav, S.T., W.R. Ferrell, J.R. Petrie, O. Scherbakova, I.A. Greer, S.M. Cobbe, et al., Microvascular function, metabolic syndrome, and novel risk factor status in women with cardiac syndrome X. *Am J Cardiol*, 2006. 97(12): p. 1727-31.
25. Botker, H.E., O. Frobert, N. Moller, E. Christiansen, O. Schmitz, and J.P. Bagger, Insulin resistance in cardiac syndrome X and variant angina: influence of physical capacity and circulating lipids. *Am Heart J*, 1997. 134(2 Pt 1): p. 229-37.
26. Botker, H.E., N. Moller, P. Ovesen, A. Mengel, O. Schmitz, H. Orskov, et al., Insulin resistance in microvascular angina (syndrome X). *Lancet*, 1993. 342(8864): p. 136-40.
27. Cosin-Sales, J., C. Pizzi, S. Brown, and J.C. Kaski, C-reactive protein, clinical presentation, and ischemic activity in patients with chest pain and normal coronary angiograms. *J Am Coll Cardiol*, 2003. 41(9): p. 1468-74.
28. Arroyo-Espliguero, R., N. Mollicelli, P. Avanzas, E. Zouridakis, V.R. Newey, D.K. Nassiri, et al., Chronic inflammation and increased arterial stiffness in patients with cardiac syndrome X. *Eur Heart J*, 2003. 24(22): p. 2006-11.
29. Torres, J.L. and P.M. Ridker, Clinical use of high sensitivity C-reactive protein for the prediction of adverse cardiovascular events. *Curr Opin Cardiol*, 2003. 18(6): p. 471-8.
30. Cybulsky, M.I. and M.A. Gimbrone, Jr., Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science*, 1991. 251(4995): p. 788-91.
31. Collins, T., H.J. Palmer, M.Z. Whitley, A.S. Neish, and A.J. Williams, A common theme in endothelial activation Insights from the structural analysis of the genes for E-selectin and VCAM-1. *Trends Cardiovasc Med*, 1993. 3(3): p. 92-7.
32. Fries, J.W., A.J. Williams, R.C. Atkins, W. Newman, M.F. Lipscomb, and T. Collins, Expression of VCAM-1 and E-selectin in an in vivo model of endothelial activation. *Am J Pathol*, 1993. 143(3): p. 725-37.
33. Harris, R.C., K.A. Munger, K.F. Badr, and K. Takahashi, Mediation of renal vascular effects of epidermal growth factor by arachidonate metabolites. *FASEB J*, 1990. 4(6): p. 1654-60.
34. Berlin, D.S., K. Sangkuhl, T.E. Klein, and R.B. Altman, PharmGKB summary: cytochrome P450, family 2, subfamily J, polypeptide 2: CYP2J2. *Pharmacogenet Genomics*, 2011. 21(5): p. 308-11.
35. Genvigir, F.D.V., A.M. Nishikawa, C.R. Felipe, H. Tedesco-Silva, Jr., N. Oliveira, A.B.C. Salazar, et al., Influence of ABCC2, CYP2C8, and CYP2J2 Polymorphisms on Tacrolimus and Mycophenolate Sodium-Based Treatment in Brazilian Kidney Transplant Recipients. *Pharmacotherapy*, 2017. 37(5): p. 535-545.
36. Ahmed, J.H.M., E.; Ali, G.Y.; Seifu, D.; Bekele, A.; Assefa, M.; Howe, R.; Fotoohi, A.; Hassan, M. and Aklillu, E., CYP2J2*7 Genotype Predicts Risk of Chemotherapy-Induced Hematologic Toxicity and Reduced Relative Dose Intensity in Ethiopian Breast Cancer Patients. *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*, 2019.
37. Liu, P.Y., Y.H. Li, T.H. Chao, H.L. Wu, L.J. Lin, L.M. Tsai, et al., Synergistic effect of cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2*7 polymorphism with smoking on the onset of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 2007. 195(1): p. 199-206.
38. King, L.M., J.V. Gainer, G.L. David, D. Dai, J.A. Goldstein, N.J. Brown, et al., Single nucleotide polymorphisms in the CYP2J2 and CYP2C8 genes and the risk of hypertension. *Pharmacogenet Genomics*, 2005. 15(1): p. 7-13.
39. Polonikov, A.V., V.P. Ivanov, M.A. Solodilova, I.V. Khoroshaya, M.A. Kozuhov, V.E. Ivakin, et al., A common polymorphism G-50T in cytochrome P450 2J2 gene is associated with increased risk of essential hypertension in a Russian population. *Dis Markers*, 2008. 24(2): p. 119-26.
40. Wu, S.N., Y. Zhang, C.O. Gardner, Q. Chen, Y. Li, G.L. Wang, et al., Evidence for association of polymorphisms in CYP2J2 and susceptibility to essential hypertension. *Ann Hum Genet*, 2007. 71(Pt 4): p. 519-25.
41. Alghasham, A., A. Ali, H. Ismail, M. Dowaidar, and A.A. Settin, CYP2J2 -50 G/T and ADRB2 G46A gene polymorphisms in Saudi subjects with hypertension. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012. 16(9): p. 1027-31.
42. Lee, C.R., K.E. North, M.S. Bray, D.J. Couper, G. Heiss, and D.C. Zeldin, CYP2J2 and CYP2C8 polymorphisms and coronary heart disease risk: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Pharmacogenet Genomics*, 2007. 17(5): p. 349-58.
43. Hoffmann, M.M., P. Bugert, U. Seelhorst, B. Wellnitz, B.R. Winkelmann, B.O. Boehm, et al., The -50G>T polymorphism in the promoter of the CYP2J2 gene in coronary heart disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *Clin Chem*, 2007. 53(3): p. 539-40.
44. Borgel, J., D. Bulut, C. Hanefeld, H. Neubauer, A. Mugge, J.T. Epplen, et al., The CYP2J2 G-50T polymorphism and myocardial infarction in patients with cardiovascular risk profile. *BMC Cardiovasc Disord*, 2008. 8: p. 41.
45. Yan, H., Y. Kong, B. He, M. Huang, J. Li, J. Zheng, et al., CYP2J2 rs890293 polymorphism is associated with susceptibility to Alzheimer's disease in the Chinese Han population. *Neurosci Lett*, 2015. 593: p. 56-60.
46. Zhu, Q., Z. Fu, Y. Ma, H. Yang, D. Huang, X. Xie, et al., A novel polymorphism of the CYP2J2 gene is associated with coronary artery disease in Uygur population in China. *Clin Biochem*, 2013. 46(12): p. 1047-1054.
47. Dreisbach, A.W., S. Japa, A. Sigel, M.B. Parenti, A.E. Hess, S.L. Srinouanprachanh, et al., The Prevalence of CYP2C8, 2C9, 2J2, and soluble epoxide hydrolase polymorphisms in African Americans with hypertension. *Am J Hypertens*, 2005. 18(10): p. 1276-81.