

## Esansiyel hipertansiyonlu olgularda CHGA geni promotor bölge polimorfizmlerinin araştırılması

### Investigation of polymorphisms in CHGA gene's promoter region in patients with essential hypertension

Metin Eser\*, Musa Şanlıalp\*\*, Emre Tepeli\*\*\*, Lale Şatıroğlu Tufan\*\*\*, Havane Asuman Kaftan\*\*, Cavidan Nur Semerci\*\*\*

\*Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi, İstanbul

\*\*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD, Denizli

\*\*\*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Denizli

#### Özet

**Amaç:** Esansiyel hipertansiyon, nedeni saptanamayan ya da ikincil bir hastalığa bağlı gelişmeyen kan basıncı yüksekliği olarak tanımlanmaktadır. Esansiyel hipertansiyonla ilişkili çok sayıda gen polimorfizmleri, metabolik yollar ve sistemler tanımlanmış olmakla birlikte esansiyel hipertansiyonun patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Son zamanlarda üzerinde çalışılan duyarlılık genlerinden biri de Chromogranin A (CHGA) genidir. CHGA geni başta adrenal medulla ve postganglionik sempatik aksonlardan eksprese olan, intrasellüler ve ekstrasellüler mekanizmalar ile katekolaminlerin depolanması ve salınımını düzenleyen bir genidir. Bu çalışmada CHGA geni promotor bölgesindeki T-1014C, T-988G, G-462A ve T-415C polimorfizmleri açısından esansiyel hipertansiyon hastaları ile kontrol grubu arasında fark olup olmadığı araştırılmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Bu çalışmada esansiyel hipertansiyon tanısı almış 50 hasta ve sağlıklı olarak kabul edilen 32 kişiden EDTA'lı tüplere periferik kan örnekleri toplanmıştır. Toplanan örneklerden DNA elde edildikten sonra CHGA geni promotor bölgesindeki T-1014C, T-988G, G-462A ve C-415T polimorfizmlerin bulunduğu DNA dizisini içeren bölge, özgün primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak polimorfizmler otomatik kapiller jel elektroforez cihazı kullanılarak DNA dizi analizi yöntemi ile araştırılmıştır. İstatistiksel analiz SPSS 11,0 versiyonu kullanılarak yapılmış olup çalışmadan elde edilen veriler tanımlayıcı istatistiksel analiz ve Ki-kare testleri ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Hasta grubunda CHGA geni promotor T-1014C polimorfik bölge için C alleli, CC ve TC genotipi, T-988G polimorfik bölgesi için G alleli, GG ve TG genotipi sıklığı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek saptanırken ( $p < 0.05$ ), CHGA promotor bölge G-462A ve T-415C polimorfik bölgelerinde allel ve genotip sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** CHGA geni promotor bölgesindeki T-1014C ve T-988G polimorfizmleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur. Olgu sayısındaki kısıtlılık nedeniyle elde edilen sonuçlar Türk toplumundaki CHGA promotor bölge polimorfizmlerini tam olarak yansıtmayabilir. Ancak Türk toplumunda yapılmış ilk çalışma özelliğini taşıyan bu çalışma ileride yapılacak çalışmalara öncülük etmesi bakımından önemlidir.

Pam Tıp Derg 2015;8(1):23-30

**Anahtar sözcükler:** Esansiyel hipertansiyon, CHGA geni promotor bölge polimorfizmleri.

#### Abstract

**Purpose:** Essential hypertension is defined as high blood pressure with an unknown cause or as high blood pressure that does not develop due to a secondary disease. Essential hypertension is associated with many gene polymorphisms, metabolic pathways and known systems. However the pathogenesis of essential hypertension is not fully understood. Recently a lot of emphasis has been put on one of the susceptible genes, Chromogranin A (CHGA) gene. CHGA gene, which is mainly expressed in the adrenal medulla and postganglionic sympathetic axon, regulates storage and release of catecholamines by intracellular and extracellular mechanisms. The aim of this study is to investigate polymorphisms in CHGA gene's promoter T-1014C, T-988G, G-462A and T-415C regions with sequence analysis in patients with essential hypertension and control cases.

**Materials and methods:** In this study, peripheral blood samples were collected in tubes with EDTA from 50 patients diagnosed with essential hypertension and 32 healthy controls. DNA was obtained from the samples. DNA sequence with T-1014C, T-988G, S-462 and C-415T polymorphisms at the promoter region of CHGA gene was amplified by the polymerase chain reaction (PCR) with specific primers. Polymorphisms were analyzed

Metin Eser

Yazışma Adresi: Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi, İstanbul  
e-mail: meserdr@hotmail.com

Gönderilme tarihi: 08.08.2014

Kabul tarihi: 22.10.2014

by the DNA sequence analysis method with the automatic capillary gel electrophoresis instrument. Data were evaluated by using descriptive statistical analysis and chi-square tests of the SPSS 11.0 version.

**Results:** According to the results, the frequency of C allele, CC and TC genotypes for promoter T-1014C polymorphic region, G allele, GG and TG genotype for promoter T-988G polymorphic region was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in patients with essential hypertension than the control group; whereas in CHGA promoter region G-462A and the T-415C polymorphic regions there was no statistically significant difference according to frequencies of allele and genotypes between patients and control groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** The polymorphisms of T-1014C and T-988G at the promoter region of CHGA gene were statistically significant between patients and control groups. The results may not fully reflect CHGA promoter region polymorphisms of the Turkish population due to limitations in the number of cases. However, the importance of this study is that it is the first study conducted in the Turkish population and it is a pioneer for future studies.

*Pam Med J 2015;8(1):23-30*

**Key words:** Essential hypertension, CHGA gene promoter region polymorphisms.

## Giriş

Hipertansiyon, arteriyel kan basıncının normal kabul edilen değerlerin üstüne çıkması olarak tanımlanmakta olup ofis tansiyonunun en az iki ölçümde 140/90 mmHg ve üzerinde olması hipertansiyon olarak kabul edilmektedir ve gelişmiş ülkelerde yetişkin popülasyonun %20-30'unu etkileyen önemli bir sağlık problemidir. Miyokard infarktüsü, serebrovasküler atak, konjestif kalp yetmezliği ve son dönem böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlara yol açarak majör morbidite ve mortalite için risk oluşturan hipertansiyon primer (esansiyel) ve sekonder olmak üzere iki gruba ayrılır. Sekonder hipertansiyon ikincil bir nedene bağlı gelişen hipertansiyon olarak tanımlanır. Esansiyel yani primer hipertansiyon ise nedeni saptanamayan ya da ikincil bir hastalığa bağlı gelişmeyen kan basıncı yüksekliği olarak tanımlanmaktadır. Esansiyel hipertansiyon patogenezinde rol oynayan faktörler ve mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşmamakla birlikte genetik faktörler başta olmak üzere muhtemelen birden fazla faktörün kan basıncı yüksekliğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Genetik faktörler içinde Anjiotensin convertin enzyme (ACE) geni, anjiyotensin II tip 1 resöptör geni ve  $\alpha$ -adducin geni gibi birçok gendeki polimorfizmlerin esansiyel hipertansiyonda rol oynadığı yapılan araştırmalarla gösterilmiştir [1-3].

Son zamanlarda üzerinde çalışılan genlerden biri de Chromogranin A (CHGA) genidir. CHGA adrenal medulla ve postganglionik sempatik aksonlardan katekolaminler ve nöropeptidler ile birlikte sekrete edilen 48 kilodalton ağırlığında (kDa) asidik bir polipeptittir [4-10]. CHGA geni 14 numaralı kromozomun q32.12 bölgesinde lokalize, 12194 baz çifti (bç) uzunluğunda, 8 ekzon ve 7 intron bölgesinden oluşmuştur. Dörtüüzelliye di aminoasit (aa) uzunluğunda

bir propeptidi kodlamakta olup bu propeptit spesifik bir endonükleaz enziminin proteolitik etkisi ile vasostatin-1, chromacin, pancreastin, parastatin ve catestatin'den oluşan biyolojik aktif peptitlere dönüşmektedir. Farelerde yapılan bir deneyde CHGA geninin sistemik ablasyonu kan basıncında yükselmeye ve hipertansiyona neden olmuş ve ancak CHGA'nın biyolojik aktif peptidi olan catestatinin dışarıdan verilmesi ile farelerdeki hipertansiyon düzeltilenmiştir. Bu çalışma CHGA geninin kan basıncı regülasyonunda önemli fonksiyonları olduğunu düşündürmüştür [11]. CHGA geninin promotor, 5'UTR, 3'UTR, ekzon ve intronik bölgelerinde çeşitli varyasyonlar (değişiklikler) tespit edilmiş olup özellikle promotor bölge, catestatin peptit bölgesi ve 3'UTR'deki DNA varyasyonlarının kan basıncı ve otonomik aktivitesinde değişikliklere neden olduğunun gösterilmesi ile de CHGA geni esansiyel hipertansiyonda yeni bir aday gen olarak gösterilmiştir [12-14].

Bu çalışmada tüm tetkikleri yapılarak esansiyel hipertansiyon tanısı almış hastalarda CHGA genindeki T-1014C, T-988G, G-462A ve C-415T polimorfizmlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve yöntem

Çalışmamızda Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı tarafından tüm tetkikleri yapılarak esansiyel hipertansiyon tanısı almış, yaşları 30-82 arasında (~58) değişen ve %48'i erkek, %52'si kadın 50 hasta ile kan basıncı değerleri normal sınırlarda olan, yaşları 26-45 arasında (~32.5) değişen ve %25'i erkek, %75'i kadın 32 kontrol olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubunun kan basınçlarının değerlendirilmesi Avrupa Hipertansiyon Derneği (ESH)/ Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) 2007 kılavuzundaki hipertansiyon sınıflandırmasına göre yapılmıştır. Hasta grubunun çalışmaya

dahil olma kriterleri; 18 yaş ve üzeri olmak, ofis tansiyonunun en az iki ölçümde 140/90 mmHg ve üzeri olması, kronik başka hastalığı olmaması, konjenital genetik temelli bir hastalığının bulunmaması olarak belirlendi. Kontrol grubunu ise 18 yaş ve üzeri olup ofis tansiyonu en az iki ölçümde sistolik kan basıncı değeri 120-129 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı değeri 80-84 mmHg olanlar, herhangi bir kronik ve genetik hastalığı bulunmayanlar oluşturdu. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Komisyonu tarafından onaylanan bu çalışmaya dahil olan tüm bireylere bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı.

Çalışma grubundaki her bireyden EDTA'lı tüplere alınan 5ml periferik kan örneklerinden DNA eldesi, Wizard Genomic DNA Purification Kiti (Promega) kullanılarak yapıldı. CHGA geni promotor bölgesindeki T-1014C, T-988G, G-462A ve C-415T polimorfizmlerin bulunduğu DNA dizisini içeren bölge, özgün primerler (1F: 5'- CAGGTTCTCATTTAGGGACAGG-3', 1R: CTTGCAACACCTACCCATTAGC; 2F:

5'-GTTACCTGTCAAGTGCGTTTCC-3', 2R: 5'-CCCCGTGCTATTTTTCTAAG-3') kullanılarak Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. PCR reaksiyonları 50 µl hacim içinde, 25 µl Hot start Taq polimeraz master miks (2.5 IU Hot start Taq DNA polimeraz, 1.5 MgCl mM, 200 µl dNTP), 2 µl primerler, 10 µl DNA ve 11 µl distile su ile gerçekleştirildi. PCR reaksiyon basamakları Tablo 1'de gösterilmiştir. PCR ürünleri etidyum bromür (EtBr) içeren %2'lik agaroz jelde yürütülerek Vilber Lourmat görüntüleme sistemi ile incelendi. Görüntüleme sonrası uygun PCR ürünlerindeki polimorfizmler için DNA dizi analizi yöntemi kullanıldı. PCR ürünleri öncelikle Wizard SV Gel ve PCR Cleanup System kiti (Promega) kullanılarak primer, nükleik asit, protein ve tuz kalıntılarından temizlenerek saflaştırıldı ve dizi analizi reaksiyonu için hazır hale getirildi. Her hasta ve kontrol grubu için hem forward hem de reverse primer ile dizi analizi reaksiyonu gerçekleştirildi. DNA Dizi analizi otomatik kapiller jel elektroforez cihazı (Beckman Coulter CEQ 8000 Genetics Analiz sistemi) ile yapıldı.

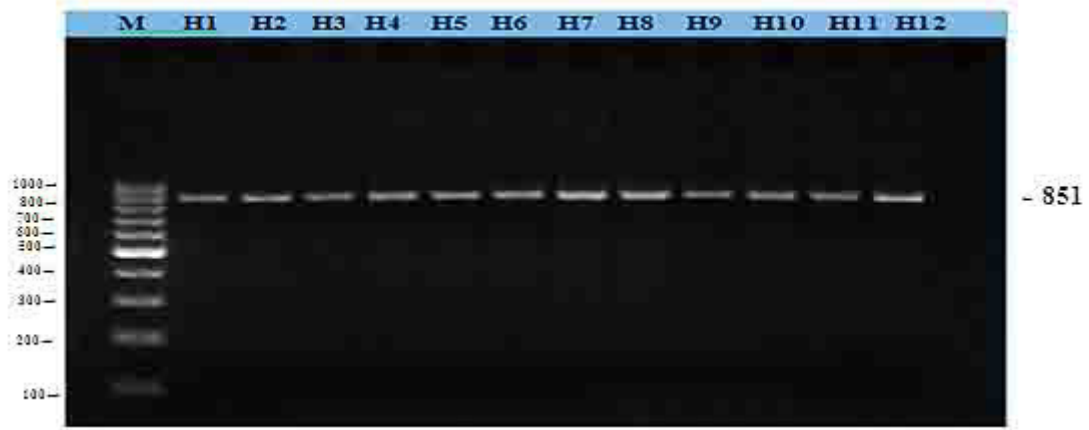
**Tablo 1.** PZR reaksiyon basamakları

PZR basamakları	Isı	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95°	15'	1
Denatürasyon	95°	1'	
Primerlerin bağlanması	57°	1'	30
Uzama	72°	1'	
Sonuçlanma	72°	10'	1

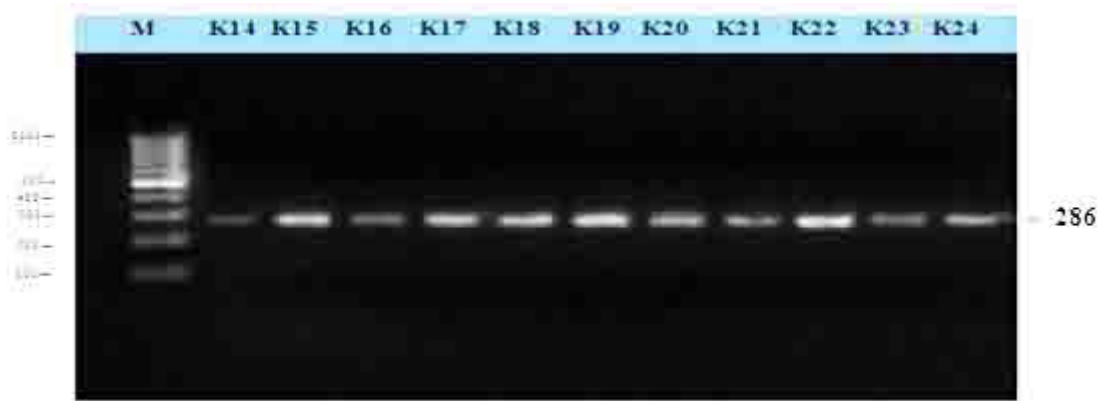
İstatistiksel analiz SPSS 11,0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Çalışmadan elde edilen veriler Ki-kare ve Ki-kare testinin uygulanmadığı yerlerde ise Fisher'in Kesinlik Testi ile değerlendirildi. Allel ve genotiplerin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları ayrı ayrı karşılaştırıldı. Ayrıca gruplarda her bir genotipin lokusta olup olmama durumunun dağılımı da ayrı ayrı değerlendirildi. Her genotip ve allel için Odds oranları (OR) ve güvenlik aralığı (%95 CI) hesaplandı. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

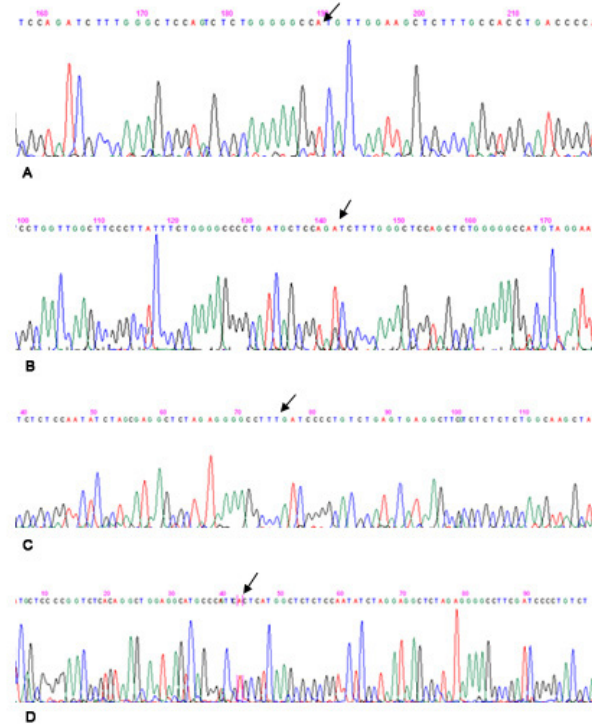
CHGA geni promotor T-1014C, T-988G, G-462A ve C-415T polimorfik bölgelerini içeren DNA dizisi için tasarlanan primerler kullanılarak hem hasta hem de kontrol grubunda analiz edildi. Örnek PCR şekil 1 ve 2'de, örnek elektroferogram görüntüleri şekil 3'de gösterilmiştir. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyete göre CHGA promotor T-1014C, T-988G ve G-462A bölgesinde belirlenen genotiplerin sıklığı karşılaştırıldığında, her iki cinsiyette istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. C-415T polimorfik bölgesinde ise hem hasta hem de kontrol grubunda her iki cinsiyette de sadece TT genotipi saptandı. Hasta ve kontrol grubunda CHGA promotor T-1014C, T-988G, G-462A ve C-415T polimorfik bölgenin analizinde elde edilen genotiplerin dağılımı tablo 2'de allellerin dağılımı ise tablo 3'de gösterilmiştir.



**Şekil 1.** Hasta grubuna ait CHGA promotor bölge PCR ürünü ( 1F-2R, 851 baz çifti) jel görüntüsü



**Şekil 2.** Kontrol grubuna ait CHGA promotor bölge PCR ürünü (2F-2R, 286 baz çifti) jel görüntüsü



**Şekil 3.** CHGA promotor bölgesi reverse primer kullanılarak yapılan sekans analizi elektroferogram görüntüleri. (A: T-1014C polimorfik bölge, 42 nolu hasta; B: T-988G polimorfik bölge, 30 nolu hasta; C: G-462A polimorfik bölge, 18 nolu hasta ve D: T-415C polimorfik bölge, 7 nolu kontrol)

**Tablo 2.** Genotip sıklıklarının gruplar arasında karşılaştırılması

Lokus	Genotip	Hasta		Kontrol		OR (%95 CI)	x <sup>2</sup>	P	
		N	%	N	%				
T-1014C	TT	30	60,0	26	81,3				
	TC	12	24,0	6	18,8				
	CC	8	16,0	0	0,0	*	6,66	<b>0,036</b>	
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	TT	30	71,4	26	81,3				
	TC	12	28,6	6	24,3	1.73 (0,57-5,26)	0,95	0,329	
	<b>Toplam</b>	42	100,0	32	100,0				
	TT	30	78,9	26	100,0				
	CC	8	21,1	0	0,0	**	***	<b>0,017</b>	
	<b>Toplam</b>	38	100,0	26	100,0				
	TT	Var	30	60,0	26	81,3			
	TT	Yok	20	40,0	6	18,8	0,35 (0,12-0,99)	4,07	<b>0,044</b>
<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0					
T-988G	TT	12	24,0	6	18,8				
	TC	38	76,0	26	81,3	1,37 (0,46-0,11)	0,31	0,575	
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	CC	Var	8	16,0	0	0,0			
	CC	Yok	42	84,0	32	100,0	**	***	<b>0,020</b>
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	G-462A	TT	28	56,0	28	87,5			
		TG	16	32,0	4	12,5	*	9,72	<b>0,008</b>
		GG	6	12,0	0	0,0			
		<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0			
		TT	28	63,6	28	87,5			
		TG	16	36,4	4	12,5	4,0 (1,19-13,47)	5,44	<b>0,020</b>
<b>Toplam</b>		44	100,0	32	100,0				
TT		28	82,4	28	100,0				
GG		6	17,6	0	0,0	**	***	<b>0,028</b>	
<b>Toplam</b>		34	100,0	28	100,0				
GG		Var	6	12,0	0	0,0			
GG		Yok	44	88,0	32	100,0	**	***	0,077
<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0					
C-415T	TT	28	56,0	28	87,5				
	TG	22	44,0	4	12,5	0,18 (0,06-0,59)	8,94	<b>0,003</b>	
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	TG	Var	16	32,0	4	12,5			
	TG	Yok	34	68,0	28	87,5	3,29 (0,99-10,99)	4,02	<b>0,045</b>
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	G-462A	GG	34	68,0	18	56,3			
		GA	13	26,0	10	31,3	*	1,58	0,453
		AA	3	6,0	4	12,5			
		<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0			
		GG	34	72,3	18	64,3			
		GA	13	27,7	10	35,7	1,45 (0,53-3,96)	0,54	0,464
<b>Toplam</b>		47	100,0	28	100,0				
GG		34	91,9	18	81,8				
AA		3	8,1	4	18,2	2,52 (0,51-12,50)	***	0,407	
<b>Toplam</b>		37	100,0	22	100,0				
AA		Var	3	6,0	4	12,5			
AA		Yok	47	94,0	28	87,5	0,45 (0,09-2,14)	***	0,423
<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0					
C-415T	GA	Var	13	26,0	10	31,3			
	GA	Yok	37	74,0	22	68,8	0,77 (0,29-2,06)	0,27	0,061
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	GG	Var	34	68,0	18	56,3			
	GG	Yok	16	32,0	14	43,8	1,65 (0,67-4,14)	1,16	0,28
	<b>Toplam</b>	50	100,0	32	100,0				
	<b>C-415T</b>	TT	50	100,0	32	100,0	-	-	-

CI : Confidence Interval: Güvenlik Aralığı

\* Bu tablo 2x3 düzeneğinde olduğu için OR hesaplanamamıştır.

\*\* Tablo gözlerinden birinde "0" olduğu için OR hesaplanamamıştır.

\*\*\* Tablodaki sayılar yeterli olmadığı için Ki-kare testi yerine Fisher'in Kesinlik Testi uygulanmıştır.

**Tablo 3.** Allel sıklıklarının gruplar arasında karşılaştırılması

Lokus	Alel	Hasta		Kontrol		OR (%95 GA)	$\chi^2$	P
		N	%	N	%			
T-1014C	T	72	72,0	58	90,6	3,76 (1,46-9,69)	7,12	0,008
	C	28	28,0	6	9,4			
	Toplam	100	100,0	64	100,0			
T-988G	G	28	28,0	4	6,3	5,83 (1,94-17,56)	10,41	0,001
	T	72	72,0	60	93,8			
	Toplam	100	100,0	64	100,0			
G-462A	A	19	19,0	18	28,1	0,60 (0,29-1,26)	1,37	0,24
	G	81	81,0	46	71,9			
	Toplam	100	100,0	64	100,0			

Bulgular incelendiğinde CHGA geni promotor T-1014C polimorfik bölge için TT genotipi esansiyel hipertansiyon hastalarında daha düşük oranda saptanırken ( $p<0.05$ ), C alleli ve CC genotipi ise daha yüksek oranda saptanmıştır ( $p<0.05$ ). T-988G polimorfik bölgesi için TT genotipi esansiyel hipertansiyon hastalarında daha düşük oranda saptanırken ( $p<0.05$ ), G alleli ve TG genotipi daha yüksek oranda saptanmıştır ( $p<0.05$ ), CHGA promotor bölge G-462A ve C-415T polimorfik bölgelerinde

allel ve genotip sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Hasta ve kontrol grubunda haplotipler karşılaştırıldığında ise hasta grubunda en sık TTGT (%56), ikinci sıklıkta CGAT (%12) haplotipleri saptanırken, kontrol grubunda en sık TTGT (%71.87), ikinci sıklıkta TTAT (%17.18) haplotipleri saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubunda saptanan haplotiplerin listesi tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Hasta ve kontrol grubu haplotipleri

Haplotipler	Hasta grubu n (%)	Kontrol grubu n (%)
TGGT	10 (%10)	-
TTGT	56 (%56)	46 (%71.87)
CTGT	11 (%11)	-
CGGT	4 (%4)	-
TTAT	4 (%4)	11 (%17.18)
CGAT	12 (%12)	3 (%4.68)
TGAT	2 (%2)	1 (%1.56)
CTAT	1 (%1)	3 (%4.68)
TTGT/TTGT	19 (%38)	18 (56.25)
CGAT/CGAT	2 (%4)	0 (%0)
TTGT/CGAT	8 (%16)	2 (%6.5)

## Tartışma

Çalışmamızda CHGA geni promotor T-1014C, T-988G, G-462A ve C-415T polimorfik bölgelerinin incelenmesinde çalışma grubunda en sık TTGT haplotipi saptandı. Wen [12] ve arkadaşlarının CHGA geni promotor bölgedeki, G-1106A, A-1018T, T-1014C, T-988G, G-462A, C-415T, C-89A, C-57T polimorfik bölgeleri içeren, farklı etnik gruplardan oluşan 180 kişi ile yaptıkları bir çalışmada altı majör haplotip arasında en sık GATTGTCC ve AATTGTCC haplotipleri tespit edilmiştir. Bu yönüyle Wen ve arkadaşlarının çalışma sonuçları bizim çalışma sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda, CHGA geni promotor T-1014C polimorfik bölge için TT genotipi esansiyel hipertansiyon hastalarında daha düşük oranda saptanırken ( $p<0.05$ ), C alleli ve CC genotipi ise daha yüksek oranda saptanmıştır ( $p<0.05$ ). T-988G polimorfik bölgesi için TT genotipi esansiyel hipertansiyon hastalarında daha düşük oranda saptanırken ( $p<0.05$ ), G alleli ve TG genotipi daha yüksek oranda saptanmıştır ( $p<0.05$ ), CHGA promotor bölge G-462A ve C-415T polimorfik bölgelerinde allel ve genotip sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Chen [13] ve arkadaşları, %90'ı Avrupalı, %10'u Meksikalı hipertansif bireylerle normotansif bireyleri karşılaştırdıkları çalışmada, G-462A polimorfik bölge için GA genotipine sahip bireylerde soğuk stres testi sonrası GG ve AA genotipine sahip bireylerden daha yüksek sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri elde edilmiş ve CHGA gen ekspresyonunun diğer genotiplere göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, GA genotipine sahip bireylerin istirahat kan basıncı değerlerinin normal popülasyona kıyasla daha yüksek seyrettiği, bu bireylerin hipertansif ve normotansif bireyler arasında yer alan ara bir fenotipe sahip oldukları ve ileride hipertansiyon gelişimi için genetik risk taşıdıkları ileri sürülmüştür. Yine aynı çalışmada çoğunluğunu normotansiflerin oluşturduğu ikiz çiftlerde soğuk stres testi sonrası T-1014C için C allele, T-988G için G allele ve G-462A için A allele sahip deneklerde düşük kan basıncı değerleri saptanmış ve bu allelerin hipertansiyon gelişimi için düşük riske sahip oldukları ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada homozigot CGAT/CGAT haplotipine sahip bireylerde soğuk stres sonrası daha düşük kan basıncı değerleri elde edilmiş ve bu haplotipin normal kan basıncı ile ilişkili olabileceği savunulmuştur [13]. Bizim çalışmada ise CGAT/CGAT homozigot haplotipi hasta grubunda (%4), kontrol grubunda ise hiç tespit edilmemiştir. Bu çalışma ile bizim sonuçlarımızın çelişkili olmasının nedenini, hem metod farklılığına (Soğuk stres testi ve gen ekspresyon çalışması) hem de olgu sayımızın az olmasına bağlayabiliriz.

Lillie [15] ve arkadaşlarının CHGA geni polimorfizmlerinin endotelin-1 (ET-1) sekresyonunu etkileyip etkilemediğini araştırmak amacı ile çoğunluğu normotansif beyaz ırktan 238 ikiz çift ile yaptıkları bir çalışmada, CHGA geni promotor, 3'UTR, intronik ve ekzon 7 bölgelerinde toplam 13 polimorfik bölge incelenmiş ve CHGA geni promotor bölge T-988G bölgesi için G alleli, G-462A bölgesi için A alleli ve C-89A bölgesi için A alleli taşıyıcılarında plazma ET-1 düzeyleri, bu bölgeler için homozigot major allel taşıyıcılarına oranla yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada bu bölgeler için heterozigot allel taşıyıcılarının, plazma ET-1 düzeyleri ile homozigot major allel taşıyıcılarının plazma ET-1 düzeyleri karşılaştırılmış ve heterozigot allel taşıyıcılarında plazma ET-1 düzeyleri daha yüksek olarak ölçülmüş olup iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca CHGA geni varyasyonlarının ET-1 sekresyonunu etkilediğini *in vivo* ve *in vitro* ortamda göstermişler ve sonuç olarak sempatokromafin sistem ile endotel fonksiyonları

arasında bir bağlantı olduğunu savunarak, endotel disfonksiyonlarının teşhis ve oluşum mekanizmalarında yeni bir genetik ve hücrel biyolojik yaklaşım ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda T-988G polimorfik bölgesinde G alleli ve TG genotipi hasta grubunda kontrol grubundan daha yüksek oranda tespit edilmiş olup her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç çalışma grubumuzdaki olgularda plazma ET-1 düzeylerinin ölçülmesi ile ilgili planlanacak çalışmalar için yol gösterici olacaktır.

CHGA geni promotor C-415T polimorfik bölge allel ve genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki sıklıkları karşılaştırıldığında, hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda allel olarak T alleli, genotip olarak TT genotipi saptanmış olup C alleli ise hasta ve kontrol grubunda saptanmamıştır. Her iki grupta allel olarak T alleli, genotip olarak TT genotipi saptandığından gruplar arası karşılaştırma istatistiksel olarak yapılamamıştır. Lillie [15] ve arkadaşları, Salem [16] ve arkadaşları, Chen [13] ve arkadaşlarının çalışmalarında da bizim çalışmamızda olduğu gibi C-415T polimorfik bölgesinde en sık T alleli ve genotip olarak da TT genotipi saptanmıştır. Yu [17] ve arkadaşlarının 23'ü primer malign hipertansiyon hastası, 39'u IgA nefropatisine sekonder malign hipertansiyon hastası ve 63'ü sağlıklı kontrol grubundan oluşan toplam 125 kişi ile yaptıkları bir başka çalışmada ise CHGA promotor bölgesinde yaygın olarak görülen polimorfizmler incelenmiş ve C-415T bölgesi için TT genotipi taşıyanların TC ve CC genotipine sahip bireylerden daha yüksek serum kreatinin değerlerine sahip oldukları gösterilmiştir. CHGA promotor bölgesinde yaygın görülen polimorfizmlerin ve haplotiplerin malign hipertansiyonun başlangıcında etkili olmayabilecekleri ancak IgA nefropatisine sekonder malign hipertansiyonda renal disfonksiyondan sorumlu olabilecekleri ileri sürülmüştür.

Sonuç olarak esansiyel hipertansiyon olgularında CHGA geni promotor bölge polimorfizmlerini araştıran bu çalışmada T-1014C, T-988G polimorfizm sıklığı hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Olgu sayısındaki kısıtlılık nedeniyle elde edilen sonuçlar Türk toplumundaki CHGA promotor bölge polimorfizmlerini tam olarak yansıtmamaktadır. Ancak Türk toplumunda yapılmış ilk çalışma özelliğini taşıyan bu çalışma ileride yapılacak çalışmalara öncülük etmesi bakımından önemlidir. Kan basıncı kontrolünde önemli rolü olduğu gösterilmiş CHGA geni ile ilgili

Türkiye'nin farklı bölgelerinden daha çok sayıda olgu serisi ile yapılacak olan çalışmalar, esansiyel hipertansiyon olgularındaki CHGA promotör bölge varyasyonlarının tespitinde ve SNP profillerinin çıkarılıp toplum taramaları ile riskli bireylerin tespit edilmesini, hipertansiyon ve komplikasyonlarını önlemeye yönelik tedbirler alınmasını sağlayabilecektir.

**Teşekkür:** Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2011TPF040). İstatistik analizler için Prof.Dr. Mehmet Zencir'e teşekkür ederiz.

**Çıkar ilişkisi:** Yazarlar çıkar ilişkilerinin olmadığını beyan etmiştir.

### Kaynaklar

1. He J, Whelton PK. Epidemiology and prevention of hypertension. *Med Clin Nam* 1997;81:1077-1097.
2. Pratt RE, Dzau VJ. Genetics and HT: concepts, potential and opportunities. *Hypertension* 1999;33:238-247.
3. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular genetics of Hypertension. *Cell* 2001;104:545-556.
4. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. *N Engl J Med* 2003;348:1134-1149.
5. Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992;49:497-528.
6. Helle KB. Some chemical and physical properties of the soluble protein fraction of bovine adrenal chromaffin granules. *Mol Pharmacol* 1966;2:298-310.
7. Blaschko H, Comline RS, Schneider FH, Silver M, Smith AD. Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature* 1967;215:58-59.
8. Iacangelo AL, Eiden LE. Chromogranin A: current status as a precursor for bioactive peptides and granulogenic/sorting factor in the regulated secretory pathway. *Regul pept* 1995;58:65-88.
9. Aunis D, Metz-Boutigue MH. Chromogranins: current concepts. Structural and functional aspect. *Adv Exp Med Biol* 2000;482:21-38.
10. Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. The granin (chromogranin/secretogranin) family. *Trends Biochem Sci* 1991;16:27-30.
11. Mahapatra NR, O'Connor DT, Vaingankar SM. et al. Hypertension from targeted ablation of chromogranin A can be rescued by the human ortholog. *J Clin Invest* 2005;115:1942-1952.
12. When G, Mahata SG, Cadman P. et al. Both rare and common polymorphisms contribute functional variation at CHGA, a regulator of catecholamine physiology. *Am J Hum Genet* 2004;74:197-207.
13. Chen Y, Rao F, Rodriguez-Flores JL. et al. Common genetics variants in the chromogranin A promoter alter autonomic activity and blood pressure. *Kidney Int* 2008;74:115-125.
14. Chen Y, Rao F, Rodriguez-Flores JL. et al. Naturally occurring human genetic variation in the 3'untranslated region of the secretory protein chromogranin A is associated with autonomic blood pressure regulation and hypertension in a sex-dependent fashion. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1468-1481.
15. Elizabeth OL, Manjula M, Srikrishna K. et al. Herdity of endothelin secretion human twin studies reveal the influence of polymorphism at the chromogranin A locus, a novel determinant of endothelial function. *Circulation* 2007;115:2282-2291.
16. Salem RM, Cadman PE, Chen Y. et al. Chromogranin A polymorphisms are associated with hypertensive renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:600-614.
17. Yu L, Jiang L, Cu XL, Zhu L, Zhang H. Common genetic variants in the chromogranin a promoter are associated with renal injury in IgA nephropathy patients with malignant hypertension. *Ren Fail* 2010;32:41-46.