

KÜBRA Ç. PEKKOÇ UYANIK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2020

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**KORONER ARTER EKTAZİ HASTALARINDA PROLİDAZ
GEN (PEPD) MUTASYONLARININ RİSK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

KÜBRA ÇİĞDEM PEKKOÇ UYANIK

**DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA YILMAZ AYDOĞAN**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Programında Doktora öğrencisi Kübra Çiğdem PEKKOÇ UYANIK tarafından Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN'ın danışmanlığında hazırlanan "Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (PEPD) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 04/02/2020 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. İlhan YAYLIM
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri-Danışman
Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri
Prof. Dr. Oğuz ÖZTÜRK
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

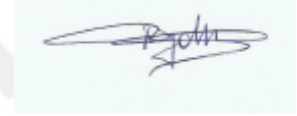
Jüri
Prof. Dr. Ebru EMEKLİ ALTURFAN
Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri
Doç. Dr. Fahri AKBAŞ
Bezmialem Vakıf Üniversitesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Kübra Çiğdem PEKKOÇ UYANIK



İTHAF

Anneme, babama, kardeşime ve eşime ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilimsel desteğini, anlayışını ve emeklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, tezimin planlanması ve yürütülmesinde, tezimin dışında da yaptığım bilimsel çalışmalarda her zaman yanımda olan, öğreten ve yol gösteren, danışman hocam olduğu için kendimi her zaman şanslı hissettiğim canım hocam, değerli bilim insanı Sn. Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan'a

Tezim süresince bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, tezimin planlanması ve yürütülmesinde beni destekleyen değerli bilim insanı hocam Sn. Prof. Dr. Oğuz Öztürk'e

Doktora eğitim sürecinde anabilim dalı olanaklarını kullanmamı sağlayan ve akademik katkılarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız, değerli bilim insanı hocam Sn. Prof. Dr. İlhan Yaylın'a

Tezimin örnek gruplarına ulaşmamı sağlayan, İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü hocalarından Sn. Doç. Dr. Ahmet Yıldız ile Dr. Onur Kılıçarslan'a

Akademik deneyimlerini ve anlayışlarını benden esirgemeyen Haliç Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden değerli bilim insanı hocalarımdan Sn. Prof. Dr. Kemal Altaş, Prof. Dr. Feridun Vural ve Prof. Dr. A. Kubilay Korkut hocalarım başta olmak üzere tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma;

Doktora eğitim hayatını paylaştığım M.Sc. Ezgi Irmak Aslan ve M.Sc. Güneş Özen başta olmak üzere Moleküler Tıp Anabilim Dalımız lisansüstü arkadaşlarıma,

En çok da desteğini doğduğum günden beri hissettiğim ve onların kızı olmaktan gurur duyduğum, bana tüm sevgisini veren, her zaman yanımda olan ve bana inanan değerli aileme; anneme, babama ve kız kardeşime,

Her zaman olduğu gibi, tez dönemimin de her aşamasında yanımda olan, en zor zamanlarımı kolaylıkla atlatmamı sağlayan, moral ve motivasyon kaynağım, sevgili eşim, yol arkadaşım Dr. Orkun Uyanık'a

Sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 31311

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Prolidaz	2
2.1.1. Prolidaz'ın Yapısı ve İşlevi.....	3
2.1.2. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve (<i>PEPD</i>) Gen Lokalizasyonu	6
2.1.3. Prolidaz'ın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi	7
2.1.4. Kollajen.....	9
2.1.4.1. Koroner Arterlerde Kollajen	12
2.1.5. Prolidaz Eksikliği ve Hastalıklarla İlişkisi.....	12
2.1.6. Prolidaz ve Koroner Arter Ektazi İlişkisi.....	14
2.2. Koroner Arter Yapısı	15
2.2.1. Arteriyel Ekstraselüler Matriks	16
2.3. Koroner Arter Ektazi.....	20
2.3.1. Koroner Arter Ektazi'nin Sınıflandırılması	22
2.3.2. Koroner Arter Ektazi Patogenezi	23
2.3.3. Koroner Arter Ektazi'de Etiyoloji.....	25
2.3.4. KAE İçin Biyokimyasal Belirteç Çalışmaları	27
2.3.5. Koroner Arter Ektazi ve Genetik Yatkınlık	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Örneklerin Seçimi	30

3.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	31
3.3. Nextera XT Amplikon Dizileme ile <i>PEPD</i> Gen Bölgesinin Analizi.....	35
3.4. MiSeq Dizileme Sonrası Elde Edilen Ham Veriyi Analiz Etme	39
3.5. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi	41
3.6. ELISA	41
3.7. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler.....	45
4. BULGULAR.....	46
5. TARTIŞMA	90
KAYNAKLAR	110
HAM VERİLER	125
FORMLAR	143
ETİK KURUL KARARI	146
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	150
ÖZGEÇMİŞ	151

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Koroner Arter Ektazinin Etiyolojisi ve Görülme Sıklıkları – Pahlavan (2016)’dan.....	25
Tablo 3-1: <i>PEPD</i> Geni Ekzonları İçin Gerçekleştirilen PCR Protokolü	33
Tablo 3-2: PCR Programı	33
Tablo 3-3: <i>PEPD</i> Geni 15 Ekzonunun PCR’ı İçin Kullanılan Primer ve Tm Değerleri	34
Tablo 3-4: Nextera XT Amplikon Dizileme Aşamaları	36
Tablo 3-5: Kütüphane Amplifikasyonu PCR Programı.....	37
Tablo 4-1: Çalışma Gruplarının Karakteristik Özellikleri	49
Tablo 4-2: Hasta ve Kontrol Gruplarında <i>PEPD</i> Geni Yaygın Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Dağılımı.....	50
Tablo 4-3: <i>PEPD</i> rs17570 G>A Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi.....	51
Tablo 4-4: <i>PEPD</i> rs17569 G>A Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi.....	52
Tablo 4-5: <i>PEPD</i> rs75449530 T>C Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi.....	53
Tablo 4-6: <i>PEPD</i> rs1061338 A>G Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi.....	54
Tablo 4-7: <i>PEPD</i> rs16968070 T>C Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi.....	55
Tablo 4-8: KAE Hastalarında <i>PEPD</i> Genotiplerinin Serum Prolidaz Düzeylerine Etkisi	56
Tablo 4-9: <i>PEPD</i> Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin KAE Grubunda Hipertansiyon, Diyabet ve Hiperlipidemiyle olan İlişkisi	57
Tablo 4-10: <i>PEPD</i> Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin Kontrol Grubunda Hipertansiyon, Diyabet ve Hiperlipidemiyle olan İlişkisi	58

Tablo 4-11: <i>PEPD</i> Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Cinsiyetle olan İlişkisi	59
Tablo 4-12: <i>PEPD</i> Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin Hasta Grubunda Tekli / Çoklu Arter Etkilenmesi ile olan İlişkisi	60
Tablo 4-13: Haplotip Analizinde Yer Alan Yaygın Varyasyonlar	61
Tablo 4-14: <i>PEPD</i> Geninde İncelenen Yaygın Varyasyonların Blok Haplotip Analizi	62
Tablo 4-15: Hasta Grubunda <i>PEPD</i> Geni Mutasyonları	75
Tablo 4-16: Kontrol Grubunda <i>PEPD</i> Geni Mutasyonları	78
Tablo 4-17: <i>PEPD</i> Geninde Nadir Gözlenen Mutasyonların Biyokimyasal ve Klinik Etkileri	81
Tablo 4-18: Hasta Grubunda <i>PEPD</i> Mutasyon Yüklerine Göre Prolidaz Düzeyleri ...	83
Tablo 4-19: <i>PEPD</i> Mutasyon Yüklerine Göre Kontrol Grubunda Prolidaz Düzeyleri	86
Tablo 4-20: <i>PEPD</i> Geni Mutasyonlarını Taşıyan ve Taşımayan KAE ile Kontrol Grubu Arasındaki İlişki.....	89

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Prolidaz ile katalize edilen bir reaksiyon - Surazynski (2008)'den	2
Şekil 2-2: Prolidaz enzimi yapısı	3
Şekil 2-3: Peptidil-prolil cis-trans izomeraz enzimi ile katalize edilen cis ve trans konformasyondaki X-Pro peptidi.....	4
Şekil 2-4: Prolidaz ve prolinaz tarafından hidrolize edilen kollajen degradasyon şeması – Kitchener (2012)'den	5
Şekil 2-5: Prolidaz geninin (<i>PEPD</i>), mRNA, alt ünite proteini ve olgun proteinin yapıları- Surazynski (2008)'den	7
Şekil 2-6: <i>PEPD</i> geninin 19. kromozom üzerindeki lokasyonu	7
Şekil 2-7: Prolidazın substratı olan hücre dışı ve hücre içi imidodipeptid kaynakları ve prokollajen sentezi için prolinin yeniden yapılandırılmasındaki rolü- Surazynski (2008)'den.....	8
Şekil 2-8: Kollajen molekülünün mapısı - Yamazaki (2010)'dan	9
Şekil 2-9: Kollajenin üçlü sarmal ve fibriller yapısı- http://tustime.com/tr 'den.....	10
Şekil 2-10: Koroner arterin iç, orta ve dış katmanlarını gösteren kesiti -Taki (2017)'den	15
Şekil 2-11: Arteriyel tabakada vasküler matriks - Yurdagul (2016)'dan	17
Şekil 2-12: Koroner arter ektazi ve anevrizma görünümü - Díaz-Zamudio (2009)'dan	18
Şekil 2-13: Anevrizmal değişimlerin patofizyolojisi – Joviliano (2017)'den	20
Şekil 2-14: Yaygın koroner arter ektazili bir hastanın anjiyografik görüntüsü – Ozturk (2018)'den.....	22
Şekil 2-15: Koroner arter ektazinin patogenezi - Devabhaktuni (2016)'dan.....	24
Şekil 2-16: KAE patogenezi ile ilişkili mekanizmalar – Ozturk (2018)'den	26
Şekil 3-1: 70K kodlu örneğin <i>PEPD</i> genindeki 15 ekzonunun PCR sonrası jel elektroforezi görüntüsü.	35
Şekil 3-2: ELISA çalışma protokolü.....	42

Şekil 3-3: ELİSA standardından seri dilüsyonların oluşturulması	44
Şekil 3-4: Standart optik dansite / konsantrasyon grafiği	45
Şekil 4-1: Hasta grubunda ELISA konsantrasyon-absorbans grafiği	47
Şekil 4-2: KAE hastalarında <i>PEPD</i> rs17570 GG ve rs169687070 TT ile rs17570 A allel ve rs169687070 C allel serum prolidaz düzeyleri	48
Şekil 4-3: Bağlantı dengesizliği şeması	61
Şekil 4-4: IVG 2.7.2 programında <i>PEPD</i> geni ilk 3 ekzon görünümü	64
Şekil 4-5: IVG 2.7.2 programında H47 kodlu hastanın yanlış anlamlı heterozigotik nokta değişimi görünümü	65

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KAE: Koroner arter ektazi
KKH: Koroner kalp hastalığı
DM: Diyabet
HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
3'UTR: 3' kodlanmayan bölge
5'UTR: 5' kodlanmayan bölge
AST: Aspartat transaminaz
ALT: Alanin transaminaz
CRP: C-reaktif protein
BUN: Kan üre azotu
HWE: Hardy-Weinberg eşitliği
TSH: Tiroid stimulan hormon
ECM: Ekstraselüler matriks
DNA: Deoksiribonükleik asit
IUB: Uluslararası Biyokimya Birliği
PDI: Prolidaz I
PDII: Prolidaz II
kDa: Kilodalton
ECM: Ekstraselüler matriks
HIF-1 α : Hipoksiyle indüklenen faktör-1 α
VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
HRE: Hipoksi yanıt elemanı
SMC: Düz kas hücresi
MMP: Matriks metalloproteinazları
BT: Bilgisayarlı tomografi
KAH: Koroner arter hastalığı
PTCA: Perkütan translüminal koroner anjiyografi
ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ID: İnsersiyon/Delesyon
e-NOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
Kb: Kilobaz
LAD: Sol ön inen arter
LMCA: Sol ana koroner arter
RCA: Sağ koroner arter
CX: Circumflex arter
SNP: Tek nükleotid polimorfizmi
MAF: Minör allel frekansı

ÖZET

PEKKOÇ UYANIK, K.Ç. (2020). Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (*PEPD*) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Koroner arter ektazi (KAE), en az bir koroner arterde komşu normal koroner arter segmentine göre 1.5 kat veya daha fazla genişleme olarak tanımlanmaktadır. KAE etiyolojisinde bağ doku hastalıkları yer almaktadır. KAE’de, koroner arter duvarı bağ dokunun zayıflamasının, pozitif yeniden biçimlenmesine neden olduğu gösterilmiştir. Prolidaz ise kollajen metabolizmasında, yeni matriks oluşumunda ve hücre büyümesinde rol alan bir enzimdir. Bu çalışma prolidazın eksprese olduğu *PEPD* genindeki varyasyonlarının ve serum prolidaz düzeyinin KAE hastalarında risk faktörü olarak klinik fenotip ile biyokimyasal parametrelerle birlikte değerlendirildiği ilk kapsamlı çalışmadır. 76 KAE hastası ve 76 kontrole ait DNA örneklerinde *PEPD* geni yeni nesil dizileme yöntemi olan MiSeq ile dizilenmiştir. KAE grubunda hipertansiyon ($p=0,006$) ve hiperlipidemi prevalansı ($p<0,001$) yüksek bulunmuştur. Klinik parametrelerde ise, KAE grubunda, HbA1c% ($p=0,026$), trigliserid ($p=0,048$) ALT ($p=0,036$), AST ($p=0,027$), kreatinin ($p=0,021$) yüksektir. Serum prolidaz düzeyi ($p<0,001$) ve HDL-K ($p=0,02$) KAE grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur. KAE grubunda *PEPD* rs17570 G>A varyasyonunda (GA+AA) genotipine ($p=0,04$) ve *PEPD* rs1698070 T>C varyasyonunda (TC+CC) genotipine sahip olanlarda ($p=0,05$) serum prolidaz düzeyi daha düşüktür. Kontrol grubunda *PEPD* rs17569 G>A varyasyonunda (GA+AA) genotipine sahip olanlarda serum prolidaz düzeyi ($p=0,01$) yüksektir. Haplotip analizlerinde KAE riski açısından özellikle rs1061338 nadir G alleli ve 17570 normal G allelini birlikte taşımanın KAE risk artışıyla yakın ilişkili olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, *PEPD* genindeki değişimlerin KAE gelişimine katkıda bulunduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Koroner Arter Ektazi, Prolidaz, *PEPD* geni, dizi analizi-DNA

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31311

ABSTRACT

PEKKOÇ UYANIK, K.Ç. (2020). Investigation of Risk Effects of Prolidase Gene (*PEPD*) Mutations in Patients with Coronary Artery Ectasia. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. PhD Thesis. İstanbul.

Coronary artery ectasia (CAE) is defined as an dilatation of at least one coronary artery 1.5 times or more than the adjacent normal coronary artery segment. Connective tissue diseases are involved in the etiology of CAE. In CAE, weakening of the coronary artery wall connective tissue has been shown to cause positive remodeling. Prolidase is an enzyme involved in collagen metabolism, new matrix formation and cell growth. This is the first comprehensive study to evaluate the variability of prolidase-expressed *PEPD* gene and serum prolidase level together with clinical phenotype and biochemical parameters as risk factors in CAE patients. *PEPD* gene was sequenced by MiSeq, a new generation sequencing method, in DNA samples of 76 CAE patients and 76 controls. In the CAE group, hypertension ($p=0,006$) and hyperlipidemia ($p<0,001$) were found to be high. In clinical parameters, HbA1c% ($p=0,026$), triglycerides ($p=0,048$), ALT ($p=0,036$), AST ($p=0,027$) and creatinine ($p=0,02$) were higher in the CAE group. Serum prolidase levels ($p<0,001$) and HDL-K ($p=0,02$) were significantly lower in the CAE group. Serum prolidase levels were lower in the CAE group with *PEPD* rs17570 G>A variation (GA+AA) genotype ($p=0,04$) and rs1698070 T>C variation (TC+CC) genotype ($p=0,05$). Serum prolidase levels ($p=0.01$) were higher in the control group with genotype in *PEPD* rs17569 G>A variation (GA+AA). In haplotype analysis, it was observed that rare G allele 17570 and normal G allele rs1061338 together was closely associated with increased CAE risk. In conclusion, it can be said that changes in *PEPD* gene contribute to the development of CAE.

Key Words: Coronary Artery Ectasia, Prolidase, *PEPD* gene, sequence analysis-DNA.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 31311

1. GİRİŞ VE AMAÇ

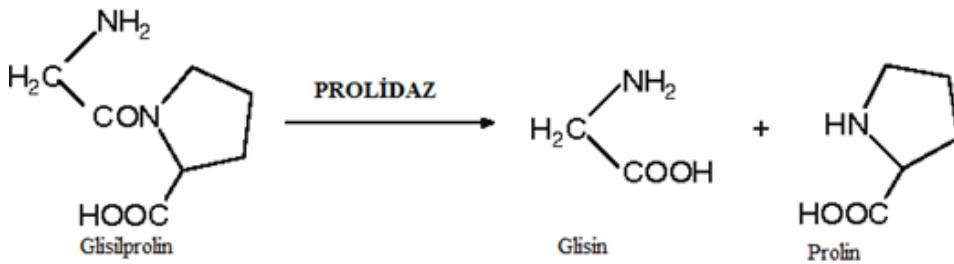
Koroner arter ektazi (KAE), en az bir koroner arterde komşu normal koroner arter segmentine göre 1.5 kat veya daha fazla genişleme olarak tanımlanmaktadır (Hartnell ve ark. 1985). KAE etiyolojisinde; ateroskleroz, mediadaki destek dokuyu zayıflatan Poliarteritis Nodoza, Ehler Danlos gibi kollajen bağ dokusu hastalıklarının yer aldığı bilinmektedir (Befeler ve ark. 1977). Koroner arter duvarı bağ dokusunun zayıflaması pozitif yeniden biçimlenmeye neden olmaktadır. KAE’de pozitif yeniden biçimlenme sürecinin bozulduğu kabul edilmektedir (Ge ve ark. 1993). Çoğunlukla prolin ve hidroksiprolinden oluşan kollajen, bağ dokuda bol miktarda bulunur. Prolidaz; kollajen metabolizmasında, yeni matriks oluşumunda ve hücre büyümesinde rol alır. Bu enzim temel olarak karboksil terminal pozisyonunda prolin veya hidroksiprolin içeren imidopeptidlerin ve imidotripeptidlerin peptid bağını hidroliz eden manganeze bağımlı bir proteinazdır. Prolidazın geniş doku dağılımı, bu enzimin birçok klinik durumla ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Palka ve ark. 1996). Prolidaz enzimi 19. kromozom üzerinde q13.11 lokasyonunda yer alan ve 15 adet ekzonu bulunan *PEPD* geni tarafından eksprese edilir (Tanoue ve ark, 1990). Çalışmamızda koroner arter ektazideki yapının farklılaşmasının, ilgili gen varyasyonları ve enzim düzeyi analiz edilerek koroner arter ektazi hastalarındaki risklerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu proje kapsamında prolidaz enzimini kodlayan fonksiyonel *PEPD* geninin tüm ekzonlarının dizi analizi MiSeq Sistemi ile serum prolidaz düzeyi ise ELİSA yöntemi ile incelenecektir.

Literatür araştırmamızda daha önce KAE hastalarında prolidaz enzimi ve kodlayan geni olan *PEPD*’in rolü kapsamlı bir çalışmada incelenmediği gözlenmiştir. Bu nedenle tez proje konumuz özgündür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prolidaz

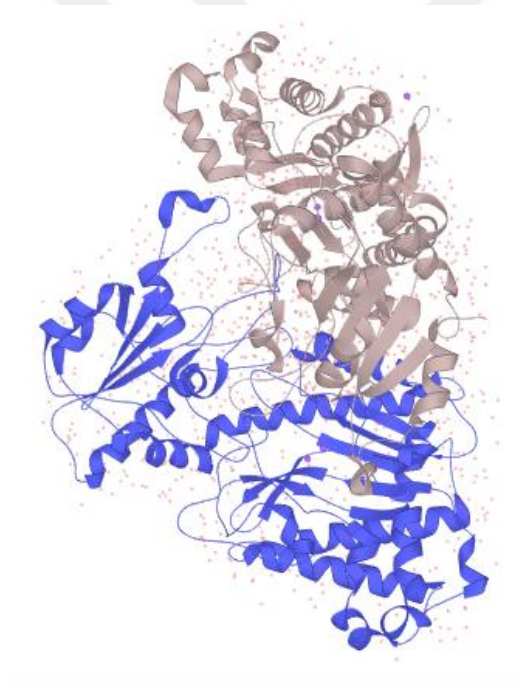
Spesifik olmayan protein hidrolizine aracılık eden hücre içi ve dışı proteazlar ile spesifik substratları tanıyarak işlevlerini yerine getiren spesifik enzimler, organizmada birçok biyolojik işlemi ve hücresel homeostazı etkileyen önemli görevler üstlenirler. Prolidaz enzimi ilk olarak 1937 yılında izole edilerek, proteolitik rolü tanımlanmıştır (Bergmann ve Fruton 1937). Enzimin substratları, karboksil ucunda prolin aminoasidi taşıdığı için prolidaz adı verilmiştir. Peptidaz D ve iminopeptidaz olarak da adlandırılan (ncbi.nlm.nih.gov/gene/5184) Prolidaz, Mn^{+2} ile aktive olan hidrolazlar sınıfına ait sitozolik bir metalloenzimdir. Prolidaz için, Uluslararası Biyokimya Birliği (IUB) Enzim Komitesinin önerdiği sistematik isim (EC 3.4.13.9)'dur. Prolidaz, protein katabolizmasında son basamakta oluşan prolin ve hidroksiprolini C-terminalinde bulunduran dipeptidlerin (X-Prolin veya X-Hidroksiprolin) yıkımında görevlidir (Endo ve Matsuda 1991; Myara ve ark. 1994). Şekil 2.1'de prolidaz ile katalize edilen bir reaksiyon örneği gösterilmektedir (Surazynski ve ark. 2008). Bu enzimin aktivitesinin eksikliğinde, oldukça nadir karşılaşılan otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalık ortaya çıkmaktadır. Hastalığın semptomları çok değişken olup kronik enfeksiyonlar, mental retardasyon, splenomegali ve cilt lezyonları görülebilmektedir (Whang ve ark. 2006). Prolidaz enzimi ile açığa çıkan prolin ve hidroksiprolin amino asitleri, kollajen dokusunun yaklaşık %25'ini oluşturmakta ve bağ dokusunun devamlılığının sağlanması ile hücre büyümesinde önemli rol oynamaktadırlar (Kurien ve ark. 2005). Prolidaz enzimi; intestinal mukoza, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, uterus, timus, eritrositler, lökositler, fibroblastlar ve plazma gibi pek çok dokuda bulunmaktadır (Özcan ve ark. 2007). Geniş doku dağılımı olması prolidaz enzim aktivite ve düzeyindeki değişimlerin pek çok hastalığın gelişiminde ve sonucunda önem kazanabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 2-1: Prolidaz ile katalize edilen bir reaksiyon - Surazynski (2008)'den

2.1.1. Prolidaz'ın Yapısı ve İşlevi

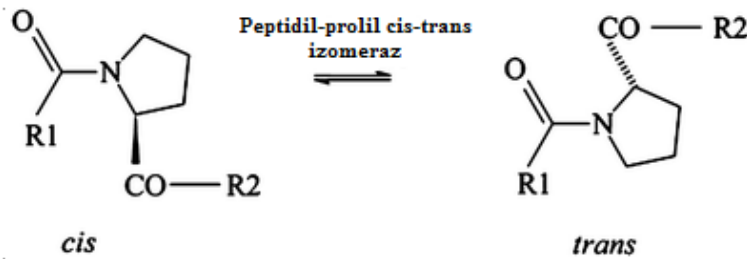
İnsan prolidazı; molekül ağırlığı 54.305 kDa olan, iki özdeş alt biriminden oluşan ve tam aktivitesi için Mn^{+2} iyonları gerektiren, pH 7.8 ve 37-50 °C'de optimum aktiviteye sahip, yaygın bulunan bir metalloenzimdir (Endo ve ark. 1982; Richter ve ark., 1989; Royce ve Steinmann 2002). Peptidaz D olarak da bilinen Prolidaz, çeşitli memeli dokuları yanı sıra mikroorganizmalarda da bulunmuştur. Prolidaz enziminin yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir (<https://www.uniprot.org/uniprot/P12955>). İnsanda I ve II olmak üzere iki prolidaz formunun izole edildiği bildirilmiştir (Uramatsu ve ark. 2009). İnsan eritrositlerinden saflaştırılmış prolidaz I (PDI) ve prolidaz II (PDII) enzimleri farklı moleküler kütlelere sahiptir (prolidaz I: 56kDa ve prolidaz II: 95kDa) (Kitchener ve Grunden 2012; Myara, 1987).



Şekil 2-2: Prolidaz enzimi yapısı

Proteinleri oluşturan 20 standart amino asit arasında, prolin farklı bir yapıya sahiptir. Prolinin yan zinciri, α amino grubu ile birleşerek bir halka yapı oluşturur. Bu nedenle diğer aminoasitlerden farklı olarak yan grubunda amino grubu yerine imino grubu taşıyan prolin sıklıkla iminoasit olarak tanımlanır. Prolinin bu emsalsiz geometrisi kollajenin fibröz yapısının oluşumuna katkıda bulunur ve sıklıkla globüler proteinlerde bulunan α heliksleri kesintiye uğratar. Sahip olduğu bu yapı nedeniyle; kollajen gibi yapısal proteinlerin yanı sıra immünomodülasyon ve koagülasyona katılan peptitler, sitokinler, büyüme faktörleri, nöro ve vazoaktif peptidler gibi çeşitli

moleküllerin konformasyonunu, özelliklerini ve biyolojik fonksiyonlarını etkiler (Vanhoof ve ark. 1995; Yaron ve Naider 1993). Prolidaz özellikle prolin ve hidroksiprolin bakımından zengin bir protein ailesi olan kollajenlerin parçalanmasında önemli rol oynar. Kollajenler, proteinlerin ve hücre dışı matriksin önemli bir parçasıdır. Hücre dışı matriks; cilt, kemik, kıkırdak, tendonlar gibi bağ dokularını güçlendirir ve destekler. Kollajen yıkımı, hücre dışı matriksin yeniden yapılanması sırasında meydana gelir (ghr.nlm.nih.gov/gene/PEPD). Sadece sınırlı sayıda memeli peptidazının, prolin aminoasitinin yer aldığı peptid bağlarını hidrolize edebildiği bilinmektedir. Peptidazların aktiviteleri, izomerik durumdan (cis-trans) ve ayrıca prolinin peptid zincirindeki pozisyonundan etkilenir Bilinen tüm proline özgü peptidazlar, sadece prolinden önceki peptid bağı trans konformasyonuna sahip olduğunda etki göstermektedir. Prolin içeren peptidlerin bağlarının hidrolizine doğrudan dahil olmamakla birlikte, peptidil-prolil cis-trans izomeraz enzimi (EC 5.2.1.8), cis formunda protein yapısına eklenen prolil kalıntısını proteinde olması gereken trans formuna dönüştürmektedir. Şekil 2.3’de peptidil-prolil cis-trans izomeraz enziminin dönüşümünü sağladığı X-Pro peptidi yer almaktadır (Yaron ve Naider 1993).

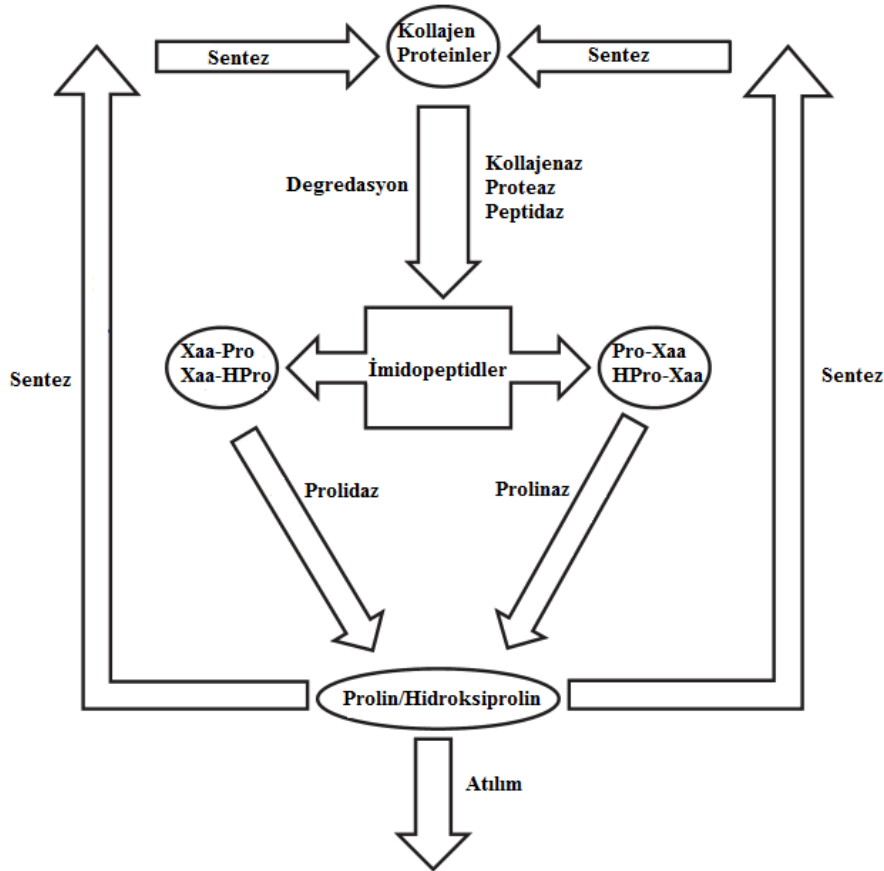


Şekil 2-3: Peptidil-prolil cis-trans izomeraz enzimi ile katalize edilen cis ve trans konformasyondaki X-Pro peptidi

Proteinlerin içindeki prolinin pozisyonuna dayanan; dokuz ekzopeptidaz, bir endopeptidaz ve iki dipeptidaz tanımlanmıştır. Bunlar; aminopeptidaz P, dipeptidil peptidaz II, dipeptidil peptidaz IV, dipeptidil peptidaz 8, dipeptidil peptidaz 9, karboksipeptidaz P, prolil oligopeptidaz, proliloligopeptidaz, prolinaz, lösil aminopeptidaz, anjiyotensin I dönüştürücü enzim ve prolidazdır. Prolin içeren peptid bağlarında doğrudan yer almayan önemli bir enzim ise anjiyotensin dönüştürücü

enzimdir (EC 3.4.15.1). Bu ekzopeptidaz, anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümünde, kan basıncı düzenlenmesinde ve elektrolit dengesinde önemli bir rol oynar. Peptid zincirinde prolin varlığı Renin-Anjiyotensin sisteminde çok önemlidir. Renin, yalnızca anjiyotensinojende Lösın-Lösın bağıını böler ve alanda bir proline ihtiyaç duyar. Aynı prolin, anjiyotensin dönüştürücü enzim tarafından anjiyotensin I'den oluşan anjiyotensin II'nin bozulmasını önler, vazokonstrüktif kapasitesini korur (Lupi ve ark. 2008).

Prolinaz (EC 3.4.13.8) ve prolidaz (EC 3.4.13.9), sırasıyla bir N- veya C-terminal prolin veya hidroksiprolin kalıntısı içeren dipeptitlerde peptit bağıını hidrolize edebilen tek dipeptidazlardır. Bu enzimler, kollajen içerisindeki yüksek oranda imino asit içeriği (>%25) nedeniyle kollajen metabolizmasında rol oynar ve genel olarak Şekil 2.4'te prolidaz ve prolinaz tarafından hidrolize edilen amino dipeptitlerin açığa çıkmasıyla sonuçlanan kollajen degradasyon şeması yer almaktadır (Kitchener ve Grunden 2012).



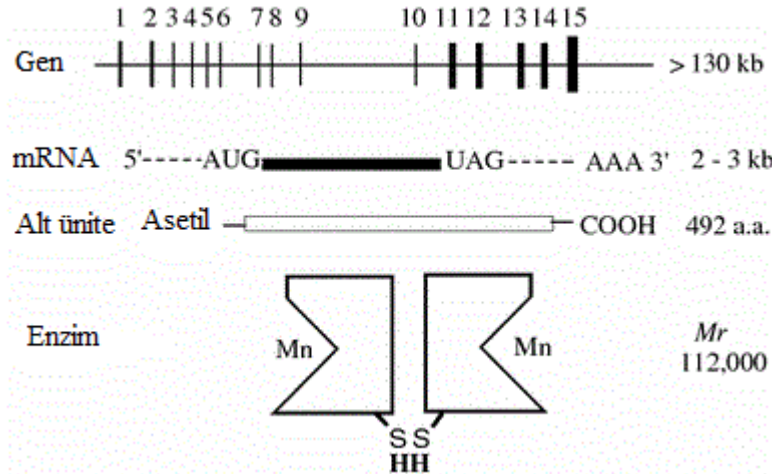
Şekil 2-4: Prolidaz ve prolinaz tarafından hidrolize edilen kollajen degradasyon şeması – Kitchener (2012)'den

Prolidaz; Alanil-Prolin, Metiyonil-Prolin, Fenilalanil-Prolin, Lösil-Prolin ve Valil-Proline karşı aktif olmasına rağmen tercih ettiği substrat Glisil-Prolin dipeptitidir (Butterworth ve Priestman 1985; Endo ve ark. 1982). Enzim fonksiyonunu özellikle trans-konformasyonunda bulunan C-terminal prolin veya hidroksprolin kalıntısı içeren dipeptitlerin hidroliziyle gerçekleştirmektedir (Vanhoof ve ark. 1995). Prolidaz; hem diyetle alınan hemde endojen proteinlerin katabolizmasında işlev görür. Kollajen gibi, imino asitler açısından zengin kaynakların geri dönüşümüne katkıda bulunarak protein sentezi ve hücresel büyüme için prolin sağlar (Emmerson ve Phang 1993; Yaron ve Naider 1993).

Prolidazın, hücre içi dipeptidaz fonksiyonunun yanı sıra, kimyasal ajanlara ve böcek ilaçlarına karşı detoksifiye edici işlevleri bilinmektedir. Son zamanlarda, tümör hücrelerinde ve özellikle melanom hücrelerinde prolidazın yüksek ekspresyonu ortaya koyulmuştur. Tümör hücrelerindeki bu özelliğe dayanarak, prolidaz ekspresyonuna yönelik, enzim hedefli prolin içeren dipeptit benzeri ilaçlar tasarlanmıştır (Mittal ve ark. 2005, 2007). Prolidaz ayrıca, diyet endüstrisinde önemli bir biyoteknolojik uygulamaya sahiptir. Prolidaz, prolin içeren dipeptitlerin peynirde oluşturduğu acılığı azaltmak için kullanılmaktadır (Bockelmann 1995).

2.1.2. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve (*PEPD*) Gen Lokalizasyonu

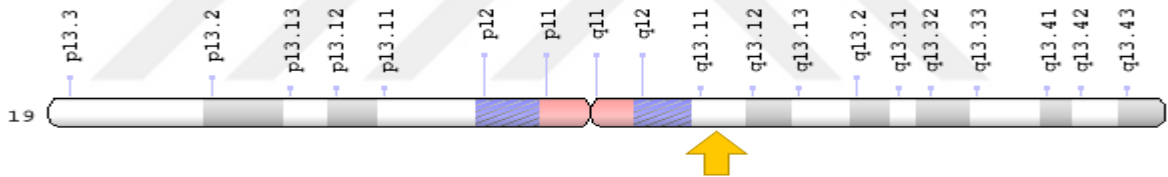
Onbeş ekzon içeren 130 kilobazlık *PEPD* geninden eksprese olan prolidaz 492 amino asit içermektedir (Tanoue ve ark, 1990; Endo ve ark. 1982). İnsan prolidaz geni, 19. kromozom kısa kolunun 19p13.11 bölgesinde (sentromer yakınında) lokalizedir (Ball ve ark. 1991, <https://varsome.com/gene/PEPD>). Bu lokusun miyotonik distrofi gen lokusuna yakın olduğu ortaya koyulmuştur. Myotonik Distrofi tip 1 geni olan *DMPK* 19q13.3'te bulunur (O'Brien ve ark. 1983). Prolidaz geninin yapısı, mRNA'sı, alt üniteleri ve enzimin doğal dimerik şekli, Şekil 2.5'de gösterilmektedir (Surazynski ve ark. 2008). Prolidaz enzimi iki protein bloğundan oluşur (ghr.nlm.nih.gov/gene/PEPD).



Şekil 2-5: Prolidaz geninin (*PEPD*), mRNA, alt ünite proteini ve olgun proteinin yapıları- Surazynski (2008)'den

(a.a. amino asitler, Mr; moleküler aralığı, kb; kilo baz)

Şekil 2.6'da *PEPD* geni lokasyonu gösterilmiştir. *PEPD* geni, peptidaz D olarak da adlandırılan prolidaz enzimini eksprese eder.

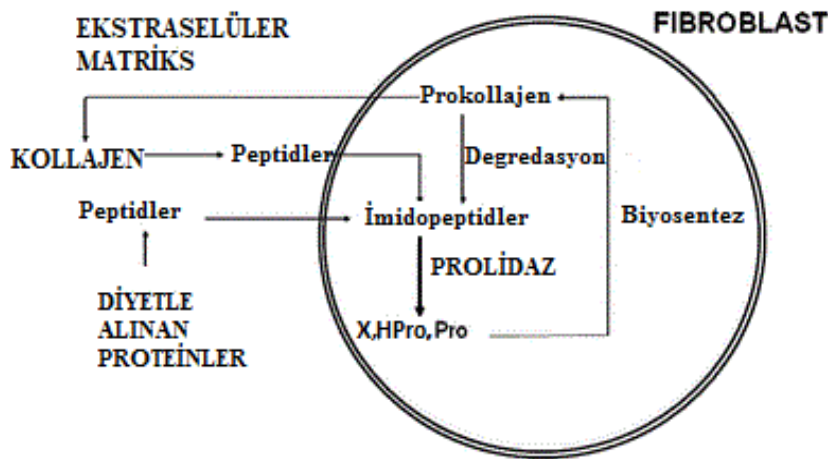


Şekil 2-6: *PEPD* geninin 19. kromozom üzerindeki lokasyonu

2.1.3. Prolidaz'ın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi

Prolidaz, imidodipeptidleri ve imidotripeptitleri C-terminal prolin veya hidroksiprolin kısmından hidrolize eden bir sitozolik ekzopeptidazdır. Enzim, iminoasitleri esasen kollajen başta olmak üzere endojen ve ekzojen protein kaynaklarından alarak işlev görür. Prolidaz, kollajen sentezi ve hücre büyümesi için prolin geri dönüşümünde önemli bir rol oynar, protein yapımı ve matriks parçalanması arasında bir arayüz görevi görür. Prolidaz aktivitesinin kollajen gen ekspresyonuna rağmen, kollajen biyosentezinin düzenlenmesinde hız sınırlayıcı bir faktör olabileceği görülmektedir. İmidodipeptidüri, cilt lezyonları, tekrarlayan enfeksiyonlar, mental retardasyon ve plazmada artmış prolin içeren dipeptitler ile karakterize olan prolidaz eksikliğinin etkili bir tedavisi tespit edilememiştir (Pałka 1996; Surazynski 2008).

Prolidaz için substratlar (imidodipeptitler), diyet proteinleri de dahil olmak üzere prokollajen, kollajen ve diğer prolin veya hidroksiprolin içeren peptidlerin hücre içi parçalanmasından gelir. Prolidaz, parçalanmanın son basamağında sitoplazmada serbest amino asitler açığa çıkarır. Memelilerde enzimin birincil biyolojik fonksiyonunun, kollajen yıkım ürünlerinin metabolizması ve kollajenin yeniden sentezi için X-Pro dipeptitlerden prolin geri dönüşümü olduğu görülmektedir (Jackson ve Heininger 1975; Yaron ve Naider 1993). Şekil 2.7’de prolidazın substratı olan hücre dışı ve hücre içi imidodipeptid kaynakları ve prokollajen sentezi için prolinin yeniden yapılandırılmasındaki rolü şematize edilmiştir (Surazynski 2008). Kollajen sentezi ve yıkımı bozukluklarında, imidodipeptidler (özellikle glisil-prolin) önemli bir rol oynamaktadır. Toplam vücut proteinlerinin yaklaşık üçte birini oluşturan kollajen, bilinen tüm proteinler içinde en yüksek miktarda imino bağı içeren polipeptid olarak bilinmektedir. Bu nedenle, prolidaz eksikliğinde bağ dokusu, özellikle ana bileşeni olan kollajen etkilenmektedir. Prolidaz eksikliği olan hastalardan elde edilen fibroblast kültürlerinde, kontrol hücrelerine kıyasla hızlı bir şekilde yapısal değişime uğramış kollajen oranında bir artış ve prolin havuzunda bir azalma bulunmuştur. Hastalığın klinik semptomlarından biri de cilt problemleridir. Deri değişikliklerine yol açan patojenetik mekanizma yeterince aydınlatılamamış olmasına karşın mikroanjiyopatiye bağlı olduğu öne sürülmektedir (Chamson ve ark. 1989).

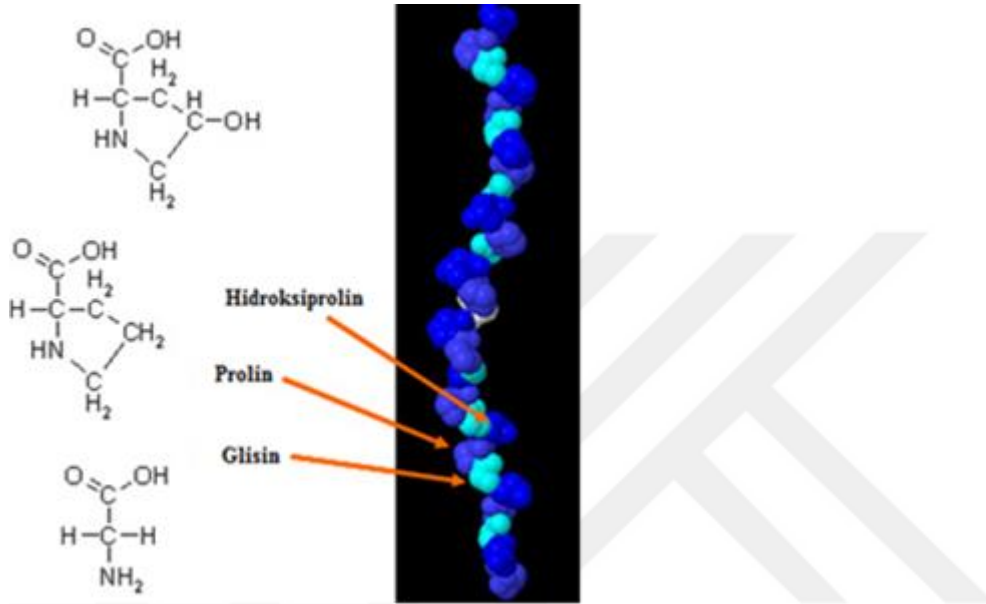


Şekil 2-7: Prolidazın substratı olan hücre dışı ve hücre içi imidodipeptid kaynakları ve prokollajen sentezi için prolinin yeniden yapılandırılmasındaki rolü- Surazynski (2008)’den

HPro; hidroksiprolin, Pro; prolin, X herhangi bir amino asit.

2.1.4. Kollajen

Fibröz protein özel aminoasitlerin düzenli bir şekilde biraraya gelerek ikincil yapılar oluşturmaları sonucunda kendine özgü şekillerini kazanarak mekanik görevler üstlenirler. Kollajen vücutta yapısal fonksiyonlar üstlenen ekstraselüler matriks yapısındaki iyi karakterize edilmiş vücutta en fazla bulunan fibröz proteindir. Şekil 2.8’de fibröz yapıyı kollajen molekülü şematize edilmiştir (Yamazaki ve ark. 2010).

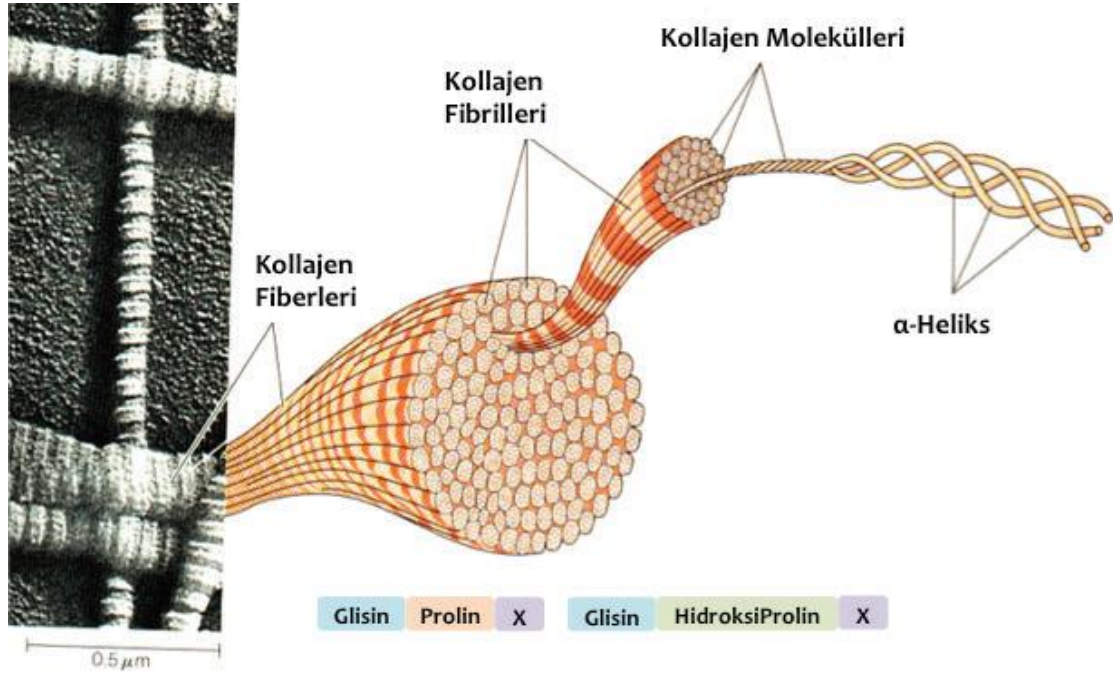


Şekil 2-8: Kollajen molekülünün yapısı - Yamazaki (2010)’dan

Prolidaz enzimi özellikle kollajen olmak üzere prolin içeren proteinlerin yıkımında görev almakta ve bu şekilde prolin içeren yeni proteinlerin sentezi için prolin kaynağına katkı sağlamaktadır. Bu nedenle prolidaz fonksiyonunu etkileyen değişiklikler kollajenlerin miktar, yapı ve dağılımını, dokulardaki hücre sinyalleşmesini, metabolizmasını ve fonksiyonunu etkileyebilir.

Kollajen, bağ dokusunun devamlılığı için gereklidir. Kollajen ve prolidaz aktivitesi arasındaki fonksiyonel bağ üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Bu ilişki, anti-enflamatuar ilaçlar ve pirolin 5-karboksilat (Miltyk ve Palka 2000) ile muamele edilmiş insan fibroblastı kültürlerinde, hücresel deneysel yaşlanma modelinde (Palka ve ark 1996), kondrositlerde deneysel enflamasyon modelinde (Karna ve ark. 2006), hücre yüzeyi integrin reseptör ligasyonunda (Palka ve Phang 1997), Osteogenesis imperfekta (Galicka ve ark. 2001) ve çeşitli malign hastalıklar (Cechowska ve ark. 2006) ile ilgili yapılan çalışmalarda bulunmuştur.

Tipik bir kollajen molekülü, birbiri etrafında bir üçlü heliks (her biri α -zinciri olarak adlandırılır) halinde sarılmış üç polipeptitten oluşan uzun ve dayanıklı bir yapıdır (Li ve Wu, 2018). Şekil 2.9'da kollajenin üçlü sarmal ve fibriller yapısı gösterilmiştir (<http://tustime.com/tr/tus-kaynaklari/infotus/biyokimya.html>).



Şekil 2-9: Kollajenin üçlü sarmal ve fibriller yapısı- <http://tustime.com/tr>'den

Tüm vücutta yaygın olarak bulunan kollajen moleküllerinin yerleşimleri ve biçimleri bulundukları organa göre değişmektedir. Bazı dokularda kollajen ekstraselüler matrikste bulunurken bazılarında ise gözün vitröz sıvısında olduğu gibi yapıyı güçlendirecek şekilde bir jel gibi yayılmış halde bulunur.

Kollajen süper ailesi, kollajen benzeri yapılar içeren ek proteinler dışında 25'ten fazla kollajen türünü kapsar (Gelse ve ark. 2003; Ricard-Blum 2011). Kollajen molekülünde üç polipeptit α -zinciri, zincirler arası hidrojen bağlarıyla birarada tutulur. Yaklaşık 1000 aminoasit uzunluğunda olan α -zincirlerinin aminoasit dizilişindeki farklılıklar bu yapısal bileşenlerin birbirlerinden farklı özellik taşımasına neden olur. Bu α -zincirleri dokularda bulunan çeşitli kollajen tiplerini oluşturmak üzere birleşir. Örneğin, en çok bulunan kollajen olan tip I kollajen yapısında $\alpha 1$ olarak isimlendirilen iki zincir ve $\alpha 2$ olarak isimlendirilen bir zincir içermektedir ($2\alpha 1\alpha 2$). Tip II kollajen

yapısında ise üç $\alpha 1$ zinciri içermektedir ($3\alpha 1$) (Shoulders ve ark. 2009). Kollajen vücuttaki görev ve yerleşimine bağlı olarak üç grupta incelenebilir.

1. Fibril Oluşturan Kollajenler

Tip I, II, III fibriller kollajenler, tipik bir kollajen molekülü için yukarıda tanımlanmış iplik benzeri yapıya sahiptir. Elektron mikroskopisinde fibrillerin bu düzlemsel polimerleri, fibrildeki her bir kollajen molekülünün düzenli paketlenmesini yansıtan karakteristik şerit modeline sahiptir. Tip I kollajen lifleri yüksek gerilim gücü gerektiren tendon, kornea gibi yapısal elemanlarda bulunurken, tip II kollajen molekülünden oluşan lifler kıkırdak yapıda yer almaktadır. Tip III kollajen yapısındaki lifler ise daha çok kan damarları gibi gerilebilir dokuların bileşenidir (Krishnamoorthi ve ark. 2017, Harvey ve Ferrier 2015).

2. Ağ Oluşturan Kollajenler

Tip IV ve VII özgün fibriller yerine daha ziyade üç boyutlu bir ağ oluşturur. Örneğin Tip IV molekülü bazal membranların en büyük kısmını oluşturan bir ağ ya da kılıf içinde yer alır (Krishnamoorthi ve ark. 2017, Harvey ve Ferrier 2015).

3. Fibril - İlişkili Kollajenler

Tip IX ve XII kollajenler, fibril ilişkili kollajen grubuna girerler. Fibril liflerinin yüzeyine bağlanarak bu yapıları birbirine ve ekstraselüler matriksin bileşenlerini de birbirine bağlar. (Krishnamoorthi ve ark. 2017, Harvey ve Ferrier 2015).

Yarı ömürleri birkaç yılı bulabilen kollajenler ileri derecede dayanıklı molekülüdür. Buna karşılık bağ dokusu dinamiktir ve genellikle büyüme ve doku yaralanmasıyla sürekli olarak yenilenmektedir. Kollajen liflerinin yıkımı büyük bir matriks metalloproteinaz ailesine ait olan kollajenazların proteolitik etkilerini gerektirir. Tip I kollajen için özgün olan kesim bölgesinde kollajenazların etki göstermesiyle, molekül dörtte üçü ve dörtte bir uzunluğunda iki parçaya bölünür. Bu parçalar daha sonra matriks proteinazlar tarafından aminoasit birimlerine ileri yıkılır (Harvey ve Ferrier 2015).

2.1.4.1. Koroner Arterlerde Kollajen

Koroner arterler, iki elastik tabaka arasında yer alan, tip I kollajen, tip III kollajen ve diğer hücre dışı matriks (ECM) proteinleri ile çevrili düz kas hücrelerini içeren toplam üç tabakadan oluşur. Elastin lifleri, koroner arter duvarında baskın ECM proteinleri olarak kuru ağırlığın% 50'sini oluştururlar. Bu lifler, damarların elastikiyetini sağlar ve aynı zamanda gerilme kuvvetini destekler. Yetişkinlerde elastinin “de novo” sentezi olmadığından, yıkımı geri dönüşümsüzdür. Dolayısıyla bu durum çeşitli hastalıklara yol açabilir. Hücre dışı matriks bileşenlerinin ve ilgili proteolitik enzimlerin KAE üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmalarda; serin, tiol, aspartik ve metallo enzimlerin yer aldığı proteolitik enzim düzeylerindeki artışın, elastik fiber liflerinin parçalanmasına yol açabileceği ortaya koyulmuştur. KAE hastalarında elastin liflerinin degradasyonunun artması ve kollajenin tip III'ten tip I'e geçişi ECM metabolizmasındaki başlıca değişimler olarak gösterilmektedir (Liu ve ark. 2016).

Tip I ve tip III kollajenler, koroner arter duvarında en çok bulunan kollajen lifleridir. Kollajen tip I, kalın ve güçlü liflerden oluşur ve esas olarak damarlara dayanıklılık kazandırır. Buna karşılık, tip III kollajen lifler doku ve organlara esneklik kazandıran ince bir retiküler ağ oluşturur.

Kollajenin kalpteki birincil rolü ise kalp miyositlerine yapısal bir çerçeve sağlamak, miyokard duvarına sertlik kazandırmak ve elektrik iletimine yardımcı olmaktır. Bu nedenle, kollajen sentezinin post-translasyonel modifikasyonu ve yıkımı çok sıkı kontrol altında düzenlenen süreçlerdir. Kollajen matriksindeki küçük değişikliklerin bile miyokardın kasılmasına ve gevşemesine, diyastolik dönemdeki kalbin direnç kuvvetine, elektriksel iletkenlik özellikleri üzerinde ciddi olumsuz etkileri olabilmektedir.

2.1.5. Prolidaz Eksikliği ve Hastalıklarla İlişkisi

Prolidaz enziminin eksprese edildiği *PEPD* geninde çok sayıda mutasyon tanımlanmıştır. Ekzon 7, 8, 12 ve 14'te bulunan nadir mutasyonlar prolidaz eksikliğinden sorumlu olabilir. Prolidaz eksikliği olan kişilerde tanımlanan *PEPD* gen mutasyonları, prolidaz enzim aktivitesinin kaybına neden olmaktadır (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PEPD>).

Araştırmacılar prolidaz eksikliğinin yaklaşık 1 ile 2 milyon yenidoğanda bir meydana geldiğini ortaya koymuşlardır. Tıp literatüründe bilinen 70 hasta vardır. Hem

İsrail'in kuzeyinde hem de Druze olarak adlandırılan bir grup arasında ve yakınlardaki Arap Müslüman topluluklarında daha yaygın görülür. Bu hastaların tanısı yenidoğan tarama testleriyle veya hastaların akrabalarına yapılacak genetik laboratuvar testleri ile konulabilir (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PEPD>; Falik ve ark. 2010).

Araştırmacılar, prolidaz eksikliğinde biriken bozulmamış dipeptidlerin hücre ölümüne neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. Hücre ölümünde ortaya çıkan içerikler ağır cilt hastalıklarına yol açabilecek enflamatuvar olaylara neden olur. Hücre dışı matriksinin yeniden biçimlenmesi sırasında bozulmuş olan kollajen yıkımının da cilt problemlerine katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PEPD>).

Prolidaz eksikliğinin belirtileri, tipik olarak bebeklik döneminde ortaya çıkar. Etkilenen bireylerde splenomegali görülebilir. Bazı durumlarda hepatosplenomegali de gözlenmektedir. İshal, kusma ve dehidratasyon da olabilir. Prolidaz eksikliği olan kişiler, cilt veya kulaklardaki ciddi enfeksiyonlara veya potansiyel olarak yaşamı tehdit edici solunum yolu enfeksiyonlarına karşı hassastır, bazı kişilerde kronik akciğer hastalığı da görülebilir (Lupi ve ark. 2008). Karakteristik yüz özellikleri arasında geniş aralıklı gözler (hipertelorizm), yüksek alın, düz bir köprü şeklinde burun ve çok küçük bir çene (mikrognati) bulunur. Etkilenen çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği görülebilir ve prolidaz eksikliği olan kişilerin yaklaşık %75'i hafif ile şiddetli arasında değişebilen mental retardasyona sahiptirler (Powell ve ark. 1974). Bu kişilerin ellerinde, ayaklarında, alt bacaklarında ve yüzünde cilt lezyonları görülebilir. Genellikle çocukluk döneminde başlayan cilt tutulumunun ciddiyeti hafif bir döküntüden ağır cilt ülserlerine kadar değişebilir. Özellikle bacaklardaki deri lezyonları tamamen iyileşmeyebilir, ağır enfeksiyon ve amputasyona varan komplikasyonlara neden olabilir. Semptomların şiddeti, etkilenen bireyler arasında büyük farklılıklar göstermekle birlikte herhangi bir belirti bulunmayan bazı hastalarda bildirilmiştir (Lupi ve ark. 2008).

Prolidaz eksikliği vakalarının çoğuna eşlik eden mental retardasyon santral sinir sistemindeki prolin konsantrasyonunun düşmesinden kaynaklanabilir. Prolidaz eksikliğinde ortaya çıkan mental retardasyonun ise, prolin bakımından zengin olan ve beyin sinyal iletiminde rol alan nöropeptitlerin işlenmesindeki problemlerden kaynaklanabileceği önerilmiştir (Der Kaloustian ve ark. 1982).

Prolinin, glutamaterjik nöronların modülasyonunda önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Freneau ve ark. 1992). Prolidaz aktivitesinin modülasyonu merkezi sinir sistemi tarafından sağlanır. Eritrosit bünyesinde mevcut prolidaz, eritrosit membranına nüfuz eden dipeptitleri parçalayabilir. Eritrositler, amino asitleri kullanamadıkları için, bu hücrelerde bulunan amino asit taşıma sisteminin asıl rolünün, peptidlerin hidrolizinden ortaya çıkan aminoasitleri uzaklaştırmak olduğu ileri sürülmüştür (King ve Kuchel 1984). Bu bilgiler ışığında, prolidaz eksikliği merkezi sinir sistemindeki prolin havuzundaki azalmadan sorumlu olabileceği ve glutamaterjik nöronların işlevini bozabileceği önerilmiştir.

Kollajen, prolinin glisine bağlandığı tek protein değildir. Benzer dizi, ağır immünoglobulin ve C1q zincirlerinde de bulunmuştur Prolidaz eksikliğine genellikle immün yetmezlik eşlik eder, bu durumun immünoglobulin ve C1q biyosentezindeki bozuklukların bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Her iki durumda kollajen benzeri amino asit sekansı göz önüne alındığında, prolidaz eksikliğinden kaynaklanan immünolojik bir eksiklik olabileceği görülmektedir (Campbell ve ark. 1976).

Hastalıkların patogenezinde prolidazın rolü iyi anlaşılmamasına rağmen, prolidaza bağımlı regülasyonun transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini etkileyebildiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmada, prolidazın aşırı ekspresyonunun artan nükleer hipoksiyle indüklenen faktör (HIF-1 α) seviyesine ve HIF-1 α 'ya bağımlı gen ürünleri olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve glukoz taşıyıcı-1'in (Glut-1) yüksek ekspresyonuna yol açtığını gösterilmiştir. HIF-1 α 'ya bağlı transkripsiyon aktivasyonunda, hipoksi yanıt elemanı (HRE) - lusiferaz ekspresyonunun prolidaza bağlı aktivasyonu gösterilmiştir (Surazynski ve ark. 2008 a-b).

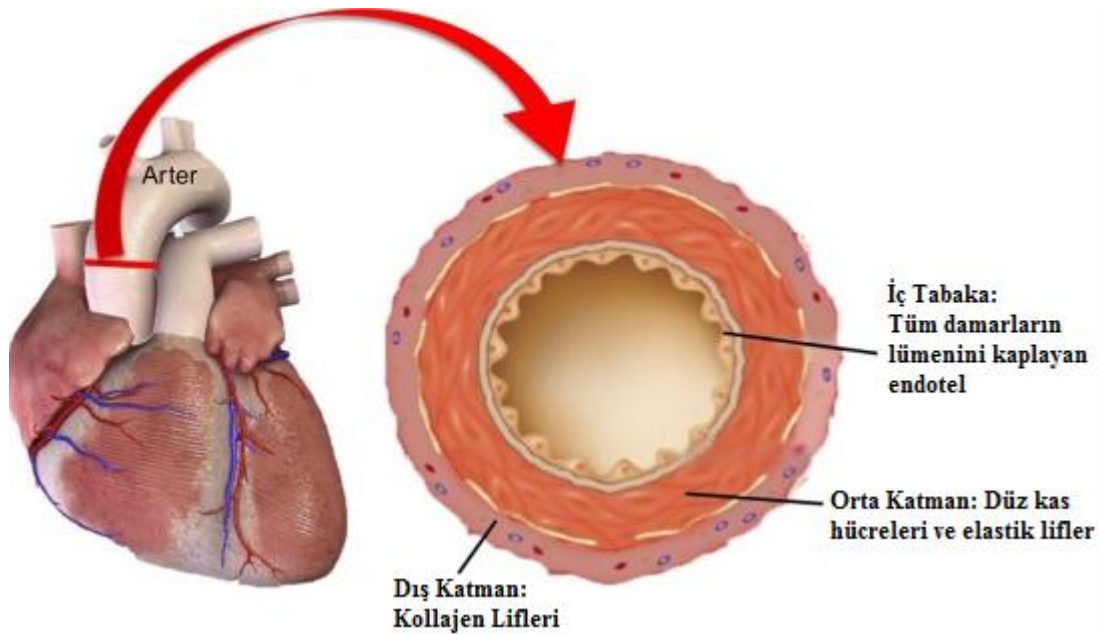
2.1.6. Prolidaz ve Koroner Arter Ektazi İlişkisi

Koroner arter ektazi etiyolojisinde; ateroskleroz, mediadaki destek dokuyu zayıflatan Poliarteritis Nodoza gibi enflamatuvar ya da Ehler Danlos gibi kollajen bağ dokusu hastalıklarının yer aldığı bilinmektedir (Befeler ve ark. 1977). Prolidaz, kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol oynamaktadır. Özellikle ekstraselüler matriksin önemli bir yapısal proteini olan kollajen tüm vücut hücrelerinde olduğu gibi kalp kası hücrelerinin de etrafında destek proteini olarak önemli rol oynar. Prolidaz enzimi, kollajenin yıkımında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında aktif görev alır. Prolidaz, koroner arterde tam işlev

göremediğinde koroner arter duvarı zayıflayabilmekte ve bunun sonucunda bozulan yeniden biçimlenme süreci pozitif korelasyonla KAE oluşumuyla sonuçlanabilmektedir (Ge ve ark. 1993). *PEPD* gen mutasyonları prolidaz miktar ve fonksiyonunu etkileyebilir. Bu nedenle prolidaz düzeylerini ve aktivitesini değiştiren *PEPD* genindeki varyasyonlar KAE gelişiminde risk etmeni olarak araştırılmaya değerdir.

2.2. Koroner Arter Yapısı

Koroner arter duvarı üç ana tabakadan oluşur. İç tabakaya Tunika intima, orta tabakaya Tunika media ve dış tabakaya ise Tunika adventisya denir. Bu üç katman, arterin enine kesitsel bir görünümünün olduğu Şekil 2.10'da gösterildiği gibidir. Tunika intima, endotel hücrelerinin oluşturduğu arterlerin lümen yüzeyini kaplayan bağ dokusunun bir tabakasıdır. Tunika media, bağ dokusu (kollajen, elastin ve diğer elastik liflerle dolu doku) ve düz kas hücrelerinden oluşur. Normal bir tunika media tabakasının kalınlığı 125 ila 350 μm (ortalama 200 μm) arasındadır. Bununla birlikte, aterosklerotik bir bölgedeki ortam daha incedir ve 16 ila 190 μm arasındadır (ortalama 80 μm). Tunika Adventisya ise çoğunlukla elastin ve kollajen lifleri ve fibroblastlardan oluşan lifli dokudan meydana gelir. (Taki 2017).

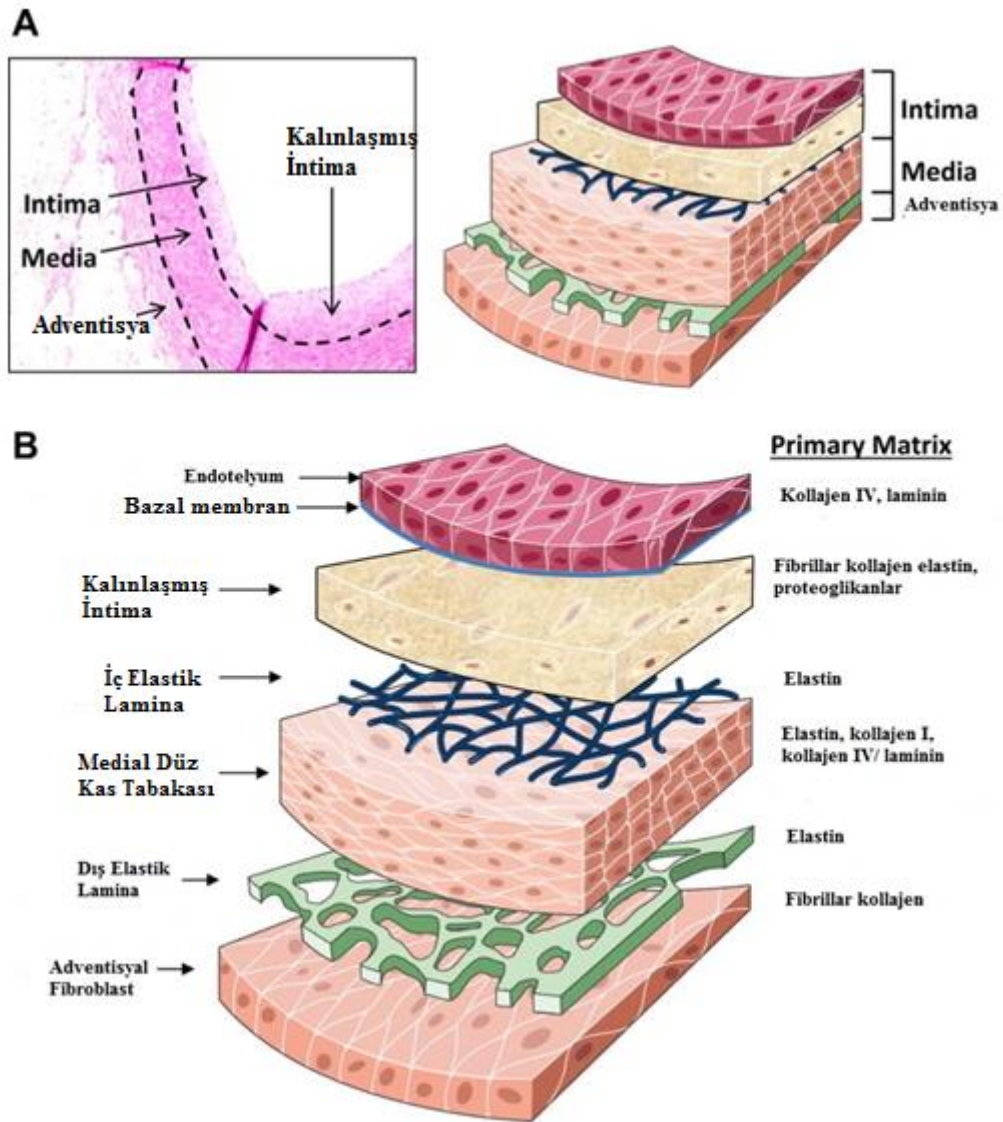


Şekil 2-10: Koroner arterin iç, orta ve dış katmanlarını gösteren kesiti -Taki (2017)'den

2.2.1. Arteriyel Ekstraselüler Matris

Kollajenlerin, proteoglikanların ve glikoproteinlerin kompleks bir organizasyonu olan ekstraselüler matris, vücudumuzun çeşitli dokularına sertlik, gözeneklilik gibi fiziksel özellikler kazandırır (Ozbek ve ark. 2010). Ayrıca matris proteinleri, hücrelerin hücre dışı matristeki değişiklikleri düzenlemesini ve yanıt vermesini sağlayan bağlanma motifleri içerir. Matris, hücre fenotipini kontrol etmek için çözünebilir faktörler için seçici bir kaynak olarak da işlev görür. Matris yapısı, hücre fonksiyonunu modüle ederken, hücreler aktif olarak matrisi yeniden şekillendirir (Bissell ve Aggeler 1987). Gelişim sırasında kontrol edilen matris yeniden biçimlenmesi organ morfogenezini ve yara iyileşmesini kolaylaştırırken, kontrolsüz yeniden biçimlenme doku fibrozisine neden olur. Doku işlevini yerine getirmeyen kronik enflamatuar hastalıklar oluşur (Bonnans ve ark. 2014).

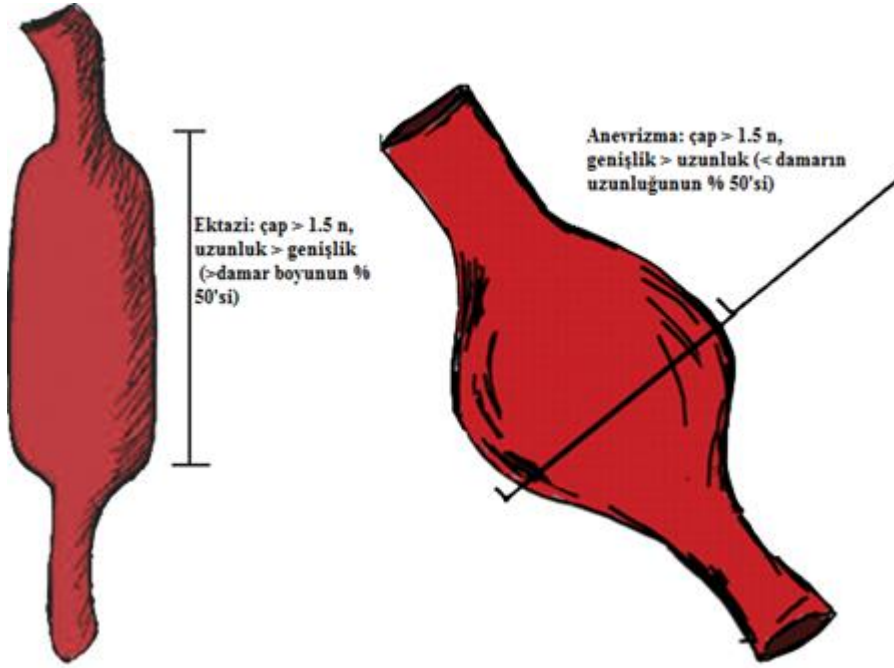
Hücre dışı matris kompozisyonu, arter tabakaları arasında önemli ölçüde farklılık gösterir. Normal koşullarda endotel hücreleri; ince bir kollajen IV tabakası, laminin 8/10, nidogen ve heparan sülfat proteoglikanları bulunan bir bazal membran üzerine oturur (Stratman ve Davis 2012). Düz kas açısından zengin medial katman ise esas olarak, damar ve fibriller tip I elastikiyet sağlayan elastin liflerinden ve gerilme kuvveti sağlayan tip III kollajenlerden oluşur. Bu tabaka intimaldan internal elastik lamina ile ayrılmıştır. Düz kas hücreleri (SMC'ler) hem fibril kollajenlerle hem de düz kas yüzeyinin çoğunu kapsayan ince bir kollajen IV/laminince zengin bazal lamina ile etkileşime girer (Barnes ve Farndale 1999). Neointimal plakta matris kompozisyonundaki değişiklikler Şekil 2.11'de gösterilmektedir (Yurdağul ve ark. 2016). Damar duvarında intima tabakasının kalınlaşmasıyla ortaya çıkan neointima çok sayıda damar düz kas hücresi içerir (Zhou ve ark. 2005). Hayatın ilk birkaç on yılında belirgin olan dağınık intimal kalınlaşma, aterosklerotik plak gelişiminden önce gelir ve proliferatif olmayan SMC'lerden, proteoglikanlardan ve elastin liflerinden oluşur (Nakashima ve ark. 2008). Endotel bazal membranı, tipik olarak fibronektin ve fibrinojen gibi yara iyileşmesiyle ilişkili geçici matris proteinleri içerecek şekilde yeniden şekillenmektedir (Orr ve ark. 2005). Media tabakasına bariyer olan iç elastik lamina, makrofajlar ve aktive edilmiş SMC'lerin ürettiği elastazlarla bozulur (Sukhova ve ark. 1998). Neointimal SMC'ler, öncelikle tip I kollajenden oluşan toplam plak proteinin yaklaşık %60'ı ile kollajen sentezini içeren aterosklerotik matrisin bir kütleliğini üretir.



Şekil 2-11: Arteriyel tabakada vasküler matriks - Yurdagul (2016)'dan

(A) Bir insan koroner arterinde arteriyel intima, media ve adventisyanın görünümü. Kesikli çizgiler iç ve dış elastik laminayı temsil eder. (B) Farklı arter tabakalarında yer alan primer vasküler matriks bileşenleri.

Koroner arter genişlemeleri ektazi ve anevrizma olarak 2 türlü gelişebilir. Ektazi ve anevrizmalar koroner arter dilatasyonlarıdır. Koroner arter ektazi, en az bir koroner arterin komşu normal koroner arter segmentinin 1.5 katı olacak şekilde genişlemesi olarak tanımlanmıştır. Şekil 2.12'de, ektazi ve anevrizma arasındaki fiziksel farklılıklar gösterilmiştir. *Koroner arter ektazide, arter uzunluğu genişlikten fazla iken; koroner arter anevrizmasında arter genişliği uzunluktan fazladır* (Díaz-Zamudio ve ark. 2009).



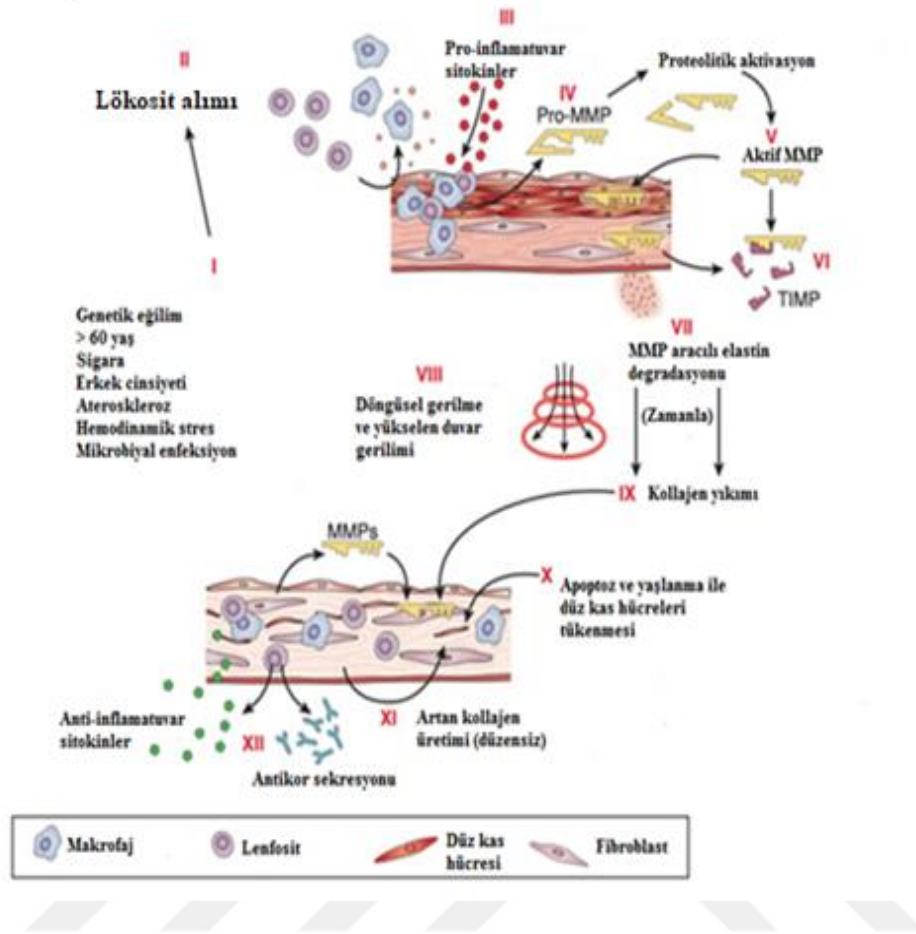
Şekil 2-12: Koroner arter ektazi ve anevrizma görünümü - Díaz-Zamudio (2009)'dan

Ektazinin patofizyolojisi: Ekstraselüler matrikste enzimatik bozunmanın rolü

Klinik tablo ve histopatolojik bulgulara dayanarak, koroner ektazinin lokal plak büyümesine cevap olarak özel bir arteriyel yeniden biçimlenme şekli oluşturduğu öne sürülmüştür. Arteriyel yeniden şekillenme, arter kesit alanının lokal elastik ve biyokimyasal faktörlere cevap olarak dış elastik membran içindeki değişikliklerini ifade eder. Üç farklı yeniden şekillendirme modeli tarif edilmiştir. Bunlar; (a) dış elastik zar ve lümen alanının büzülmesini temsil eden daraltıcı yeniden yapılanma, (b) toplam dış elastik zar alanının arttığı, ancak lümenin korunduğu yeniden şekillenme ve (c) hem dış elastik zarın hem de lümen boyutunun arttığı aşırı genişleme yeniden biçimlenmesidir. Koroner ektazi, ortamın hücre dışı matriksinin (ECM) enzimatik bozunmasıyla oluşan temel patobiyolojik bir süreç gibi görüldüğü için abartılı aşırı geniş bir yeniden şekillenme biçimi olarak düşünülebilir. Matriks metalloproteinazlarının (MMP'ler) aşırı ekspresyonu, deneysel hayvan modellerinde genişlemiş arteriyel yeniden biçimlenme ile ilişkiliyken baskılanması buna karşı biçimde oluşur. Yapılan çalışmalarda anevrizmalar artmış MMP üretimi ile ilişkilendirilmiştir. MMP-3 geninin artan ekspresyonu, koroner anevrizmaların bağımsız bir belirleyicisi olarak bildirilmiştir (Antoniadis ve ark. 2008).

Matriks parçalayıcı enzimler; enflamatuar hücrelerin intimadan ortama yayılması, kollajenin parçalanması ve elastin liflerinin azaltılması, arteriyel duvar bütünlüğünün zayıflaması ve sonuçta da iç elastik laminada ciddi bozulmalara neden olabilir. Sistein proteinazlar (örneğin katepsinler K, L ve S) ve serin proteinazlar (örneğin, nötrofil elastaz, plazminojen aktivatörleri, plazmin, triptaz) gibi diğer proteolitik enzimler ektazi ya da anevrizmaların patogeneğinde bir rol oynayabilir

Anevrizmal genişlemelerin başlıca etiyolojik faktörleri ve anevrizma oluşumunun patofizyolojisinin gösterildiği şematik diyagram Şekil 2.13’de yer almaktadır. Anevrizma oluşumunda; genetik eğilim, ileri yaş, sigara kullanımı, erkek cinsiyet, ateroskleroz, hemodinamik stres ve mikrobiyal enfeksiyonlar bilinen başlıca risk faktörlerindendir. Bu faktörlerin (I) bir sonucu olarak lökositlerin damar duvarında toplanması (II), makrofaj aktivasyonuna ve proinflamatuar moleküllerin (III) üretilmesine neden olur. Makrofajların ortama gelişiyile, hücre dışı alanda aktive olan proenzimler (pro-MMP’ler) (IV) matriks metalloproteinazlara (MMP’ler) (V) dönüşürler. Doku inhibitörleri (TIMP’ler); matriks metalloproteinazlarının aktivitesini (VI) nötralize edebilir, ancak bu nötralizasyon yapısal matriks proteinlerinin (elastin ve interstisyel kollajenler) (VII) bozulmasını önlemek için yetersizdir. Zamanla, elastin bozulması, döngüsel gerilme ve yüksek damar duvarı gerilimi ile ilerleyici anevrizmal dilatasyona yol açar (VIII). Kollajen yıkımı, damar duvarını (IX) daha da zayıflatır; Her ne kadar medial düz kas hücreleri (SMC’ler) ve fibroblastlar yapısal onarımı desteklese de, apoptoz ve hücre yaşlanma düz kas hücrelerinin tükenmesine (X) neden olur ve interstisyel kollajen düzensizliği görünür (XI) (JovilianoI ve ark. 2017).



Şekil 2-13: Anevrizmal değişimlerin patofizyolojisi – Joviliano (2017)’den

MMP: Matriks metalloperoteinazları; TIMP: Doku inhibitörleri

2.3. Koroner Arter Ektazi

Koroner arter ektazi, uzun segmenti kapsayan ve koroner arter çapının, normal olması gereken koroner arter çapından 1.5 kat genişlemesi olarak tanımlanır (Swaye 1983). Koroner arter ektazi (KAE), nadir görülen kardiyovasküler bozukluklardan biri olan koroner arterin yaygın dilatasyonudur. Komşu normal koroner arterin 1,5 katı çapında dilatasyon olarak tanımlanır. Prevalansı %1,2 ile %4,9 arasında değişmekte olup, erkek oranı kadın oranı 3:1'dir (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03896321>). Buna rağmen, Koroner arter ektazi etiyolojisinin %50'sini ateroskleroz oluşturur (Devabhaktuni ve ark. 2016). Farklı çalışma popülasyonlarından çeşitli çalışmalarda sıklığının %0,2 ile %10 arasında değiştiği de bildirilmiştir (Aintablian 1978; Befeler 1977; Daoud 1963; Sharma 1990). KAE'nin altında yatan tam mekanizma bilinmemekle

birlikte rapor edilen KAE prevalansı yıllar geçtikçe artmıştır (Li ve ark. 2007; Yetkin ve Waltenberger 2007). Bu artış koroner anjiyografi için başvuran hastaların farkındalık artışı ve hastalığın tanınması nedeniyle olabilir.

Koroner anjiyografi, KAE tanısı için bir altın standart tekniktir. Ek olarak, ektazinin büyüklüğü, yeri ve anevrizmal segmentlerin sayısı hakkında da bilgi sağlar (Li ve ark. 2007). Günümüzde, bilgisayarlı tomografi (BT) ile çekilen koroner anjiyografi alternatif bir non-invaziv tanı yöntemidir (Bermudez 2003). Günümüzde, bilgisayarlı tomografi (BT) ile çekilen koroner anjiyografi alternatif bir non-invaziv tanı yöntemidir (Díaz-Zamudio 2009). Koroner arter hastalığının (KAH) aksine, KAE daha az çalışılmıştır. Koroner arterin toplam uzunluğunu etkileyen durumlarda “yaygın” olarak veya bölgesel ise “lokal” olarak sınıflandırılır.

KAE, koroner trombüs oluşumuna veya vazospazmlarla sekonder gelişen stabil anjina ve akut koroner sendrom gibi KAH benzeri klinik tablolara yol açabilir (Kruger 1999; Manginas ve Cokkinos 2006). Anjina semptomlarının ana nedeni, genişlemiş koroner arterlerden kaynaklanan bozulmuş koroner kan akışıdır. Koroner arterdeki anevrizmal dilatasyonlar yavaş ve türbülanslı akışa neden olur (Erden 2010). Anormal kan akışı düzeni, endotel hücrelerini etkiler; bu durum da atardamar duvarına monosit infiltrasyonuna neden olan monosit kemotaktik protein-1 gibi aterojenik gen aktivasyonunu indükleyerek endotel hücre ve trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini artırır. Daha sonra, endotel disfonksiyonu bozulmuş akış bölgesinde ortaya çıkar (Chiu ve Chien 2011). Ektatik arterlerin mikroskopik incelemesi, fibröz kapaklarla çevrili kolesterol yarıkları ve medianın fokal yıkımı gibi aterosklerotik değişikliklerin ektazilerde de bulunduğunu ortaya koymaktadır (Demopoulos ve ark. 1997). Roberts tarafından yapılan bir çalışmada otopsi yapılan KAE'li hastaların %80 koroner arterlerindeki anevrizmalarda trombüs olduğunu göstermiştir. Anevrizmaların önemli bir kısmında içinde daralma vardır. KAE'nin ve buna bağlı lümen daralmasının varlığına rağmen, hastaların sadece %40 miyokard iskemisi, skar veya nekroz geliştiğini göstermiştir. (Roberts 2011). Bu çalışmalar ışığında, farklı klinik ve patolojik durumlarda ortaya çıkan KAE'nin birden fazla mekanizma ile oluşabileceğini ve farklı patogenetik varyantlar gösterebileceğini düşündürmektedir.

2.3.1. Koroner Arter Ektazi'nin Sınıflandırılması

Koroner arter ektazi ile ilgili yapılan ilk prospektif çalışma 1976'da yayınlanmıştır (Markis 1976). Koroner anjiyografi yapılan 2457 hastanın 30'una (%1.2 prevalans) KAE tanısı koyulmuştur. Ayrıca koroner anjiyografi görüntülerine göre KAE'yi Markis sınıflandırması olarak adlandırılan dört tip olarak sınıflandırılmıştır: Tip 1, iki veya üç koroner arterde yaygın ektazi; Tip 2, bir koroner arterde yaygın ektazi ve başka bir damarda lokalize ektazi; Tip 3, sadece bir koroner arterde yaygın ektazi; ve Tip 4, lokal veya segmental ektazi (Markis 1976) olarak gruplandırılır. Şekil 2.14'de Yaygın ektazili ve sağ koroner arterde KAH eşlik eden bir hastanın koroner anjiyografik görüntüsü gösterilmiştir (Ozturk ve ark. 2018).



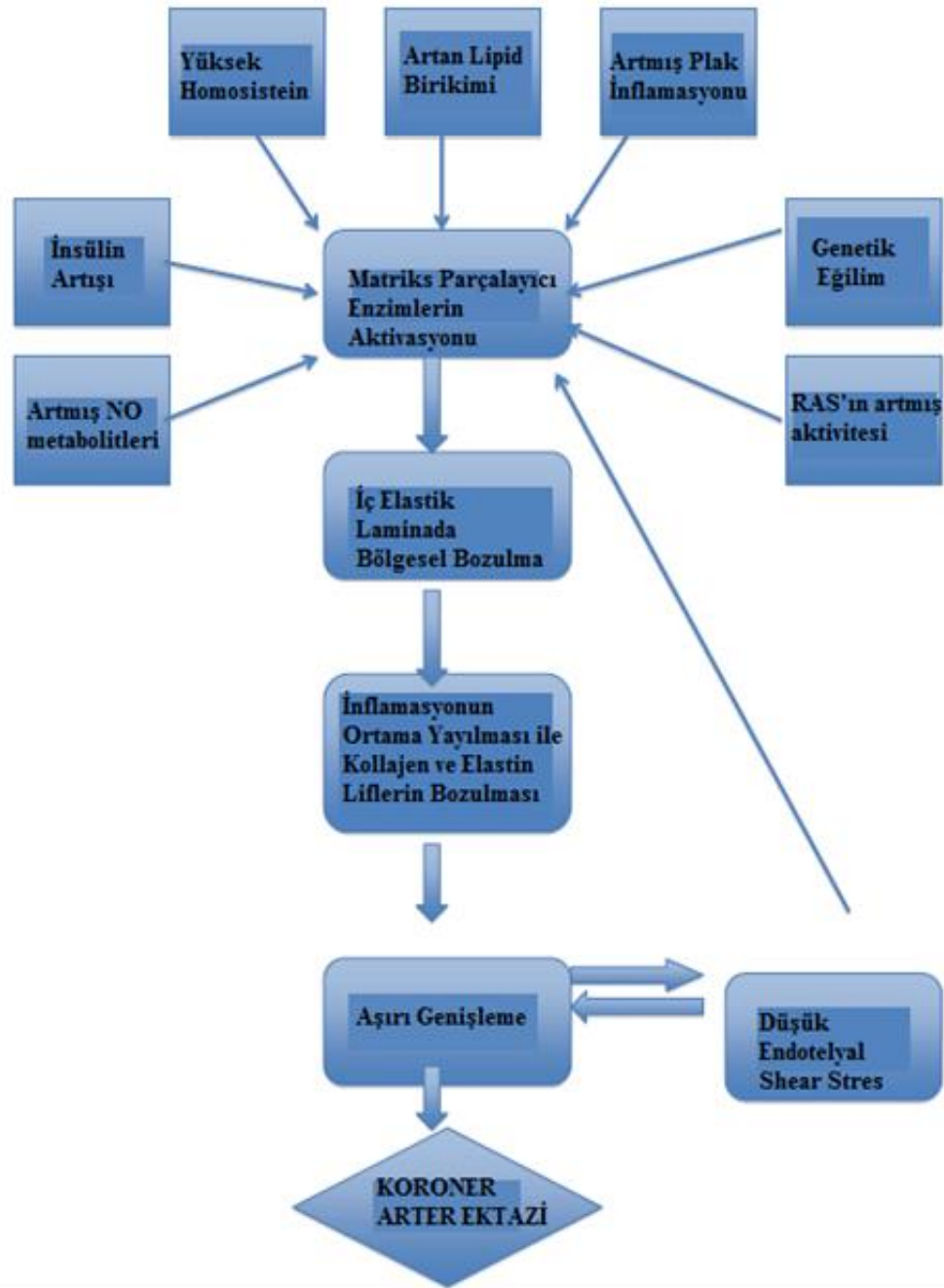
Şekil 2-14: Yaygın koroner arter ektazili bir hastanın anjiyografik görüntüsü – Ozturk (2018)'den

Başlıca anjiyografik bulgular, bozulmuş koroner kan akımı, gecikmiş koroner boya dolgusu olarak adlandırılan segmental akım ve ektazik segmentlerde lokal boya birikimi ile durmasıdır (Yetkin ve Waltenberger 2007). Sağ koroner arter, KAE'de en sık etkilenen damardır (%40-%70). Üç koroner damarın veya sol ana koroner arterin ektazisi nadirdir. Tutulumun anjiyografik görüntüsü hastalığın etiyolojisine göre değişebilir. Aterosklerotik veya enflamatuvar anevrizmalar genellikle çokludur ve birden fazla koroner arter içerir; bununla birlikte doğuştan veya travmatik anevrizmalar bazen tek bir damar içerir (Abou Sherif ve ark. 2017).

2.3.2. Koroner Arter Ektazi Patogenezi

Koroner arter ektazide, ateroskleroz (Demopoulos ve ark. 1997; Yetkin ve Waltenberger 2007), Kawasaki hastalığı (Dahdah ve ark. 1999), doğumsal kalp defektleri (Chugh ve ark. 2004), ailesel hiperkolesterolemi (Sudhir ve ark. 1995), enfeksiyonlar (Harada ve ark. 1997), kollajen vasküler hastalıklar (Chaithiraphan ve ark. 1973; Matayoshi ve ark. 1999; Noma ve ark. 1963), kokain kullanımı (Satran ve ark. 2005), herbisit maruziyeti (England 1981), orak hücre hastalığı (Dahhan ve ark. 2015) patogeneze katkıda bulunan patolojik etmenlerdir. Ateroskleroz ile ilişkili KAE'deki karakteristik değişiklikler, elastin liflerinin hasar görmesi ve azalmış düz kas hücresi dahil olmak üzere kas içi mükuloelastik tabakanın tahribatına eşlik eden intima'daki değişiklikler olarak tanımlanmıştır. Tersine, enflamatuvar hastalıklar ile ilişkili KAE'de sıklıkla medial tabakaya inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve mükuloelastik kısmın harabiyeti görülmektedir (Abou Sherif ve ark. 2017; Dahhan ve ark. 2015).

Enflamatuvar hastalıklardan biri olan Kawasaki hastalığı, çocukluk çağında görülen bir vaskülitir. KAE gelişiminde en sık görülen ikinci etiyolojik sebeptir. Akut Kawasaki hastalığı olan hastaların doku örneklerinde arter duvarına infiltrasyon yapmış mononükleer hücreler, lenfositler ve makrofajlar görülür. Ayrıca iç elastik laminada hasar, düz kas hücreli nekroz, myointimal proliferasyon ve koroner arterlerin anevrizması (Abou Sherif 2017; Dahdah 1999; Dahhan 2015; Takahashi 2018) görülür. Kollajen vasküler KAE ile ilişkili hastalıklar fibrillin gen mutasyonları ile de bağlantılıdır ve kistik medial nekroz histopatolojide gözlenen ana bulgudur (Abou Sherif ve ark. 2017; Matayoshi 1999). Patojenlerin koroner arterlere yayılması ve immün kompleks birikimleri enfeksiyonla ilişkili KAE'nin özelliklerindendir (Yetkin ve Waltenberger 2007; Abou Sherif ve ark. 2017; Harada ve ark. 1997). İlaç veya kokain kullanımı sebebiyle oluşan hipertansiyon atakları veya vazokonstriksiyon kaynaklı endotel hücre hasarı da KAE oluşumuna sebep olabilir (Satran 2005). Şekil 2.15'de koroner arter ektazi patogenezi yer almaktadır.



Şekil 2-15: Koroner arter ektazinin patogenezi - Devabhaktuni (2016)'dan.

2.3.3. Koroner Arter Ektazi'de Etiyoloji

KAE'nin altında yatan ana mekanizma tam olarak tanımlanmamıştır. Önceki çalışmalar ışığında, birden fazla mekanizma olabileceği öne sürülmektedir. Hastalığın önlenmesi ve ilerlememesi için spesifik bir tedavi yöntemi veya ilacı yoktur (Ozturk ve ark. 2018). Koroner arter ektazi etiyolojisinde büyük oranda ateroskleroz başta olmak üzere birçok faktör rol oynar.

KAE, aterosklerotik plak büyümesine yanıt olarak genişleme şeklinde “aşırı damarsal yeniden şekillenme” olarak ortaya çıkar (Devabhaktuni ve ark. 2016). %50 oranında ateroskleroz görülürken, yaklaşık %20 konjenital sebepler ve Kawasaki hastalığı, %20 kadarında da inflamatuvar veya bağ doku hastalıklarının yer aldığı bilinmektedir. KAE, ailesel hiperkolestrolemi ve abdominal aort anevrizması ile de sıklıkla birlikte görülür. Koroner arter ektazinin etiyolojik nedenleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (Pahlavan ve Niroomand 2006).

Tablo 2-1: Koroner Arter Ektazinin Etiyolojisi ve Görülme Sıklıkları – Pahlavan (2016)’dan

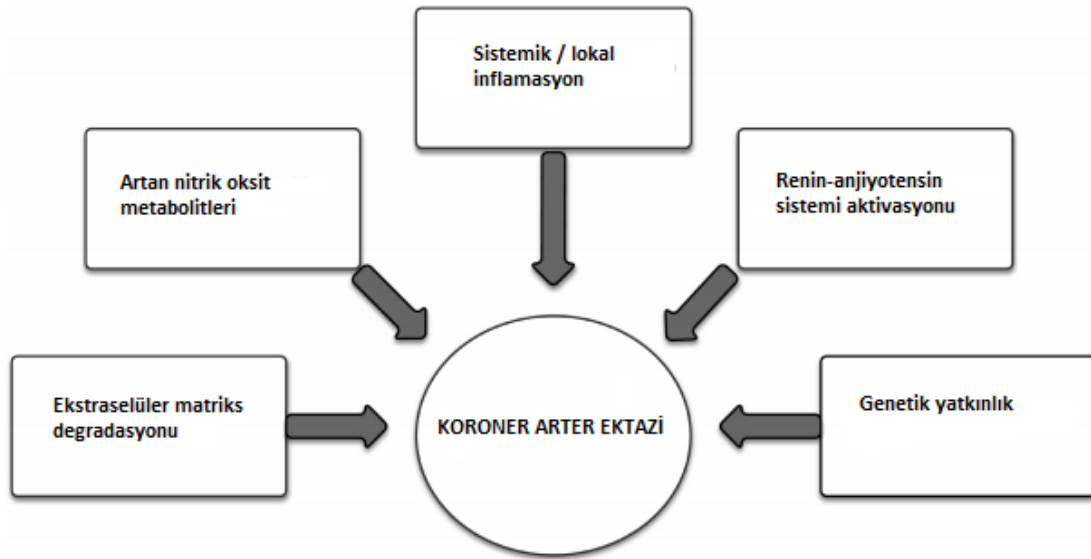
KAE Etiyoloji	Yaklaşık Frekans
-Ateroskleroz	%50
-Kawasaki hastalığı ve doğumsal nedenler	%17
-Frengi ve borreliosis dahil olmak üzere mikotik ve bulaşıcı septik emboliler	%11
-Bağ dokusu hastalıkları ve Marfan sendromu	<%10
-Arterit, örneğin Poliartrit nodoza, Takayasu hastalığı, sistemik lupus eritematozus	<%10
-Ehlers Danlos sendromu	Nadir
-Nörofibromatozis	Nadir
-Tümör	Nadir
-Primer kardiyak lenfoma	Nadir
-Konjenital KAE	Nadir
-İyatrojenik, örneğin; PTCA, stentler, yönlü koroner aterektomi, anjiyoplasti ve lazer anjiyoplasti	Nadir

Kısaltmalar: KAE = koroner arter ektazi, PTCA = perkütan transluminal koroner anjiyoplasti.

Koroner arter ektazinin patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Nitrik oksit seviyelerinde değişiklik, iltihaplanma, hücre dışı matriks degradasyonu, dislipidemi ve genetik yatkınlık şüphelenilen mekanizmalardır.

Erkeklerde daha sık gözlenen KAE gelişimi için hipertansiyon en önemli risk faktörü olarak gösterilmektedir. İlginç bir şekilde diyabetik hastalarda KAE insidansının düşük olduğu tespit edilmiştir sahiptir. Bunun nedeninin ateroskleroza yanıt olarak MMP'nin negatif yeniden biçimlenme ile aşağı regülasyonunun olabileceği önerilmektedir. KAE'li hastalarda sigara kullanımının koroner arter hastalığı (KAH) hastalarından daha yaygın olduğu da bildirilmiştir. Kokain kullanımının sigaradan bağımsız olarak KAE'nin bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (Devabhaktuni ve ark. 2016).

Koroner arter ektazinin spesifik bir tedavi yöntemi yoktur. Koroner arter ektazinin, kalbin lokal bir hastalığı olmak yerine insan vücudundaki tüm vasküler bölgeleri etkileyen sistemik bir vasküler hastalığın lokal bir sonucu olabileceği akılda tutulmalıdır (Ozturk ve ark. 2018). Şekil 2.16'da KAE patogenezi ile ilişkili mekanizmalar gösterilmektedir.



Şekil 2-16: KAE patogenezi ile ilişkili mekanizmalar – Ozturk (2018)'den

2.3.4. KAE İçin Biyokimyasal Belirteç alışmaları

Literatür KAE'ye özgün bir biyobelirteç ortaya koymamıştır. Enflamatuvar belirteçler olan; sitokinler, tümör nekroz faktörü ve IL-6 gibi sistemik inflamasyon belirteçleri ve KAE hastalarının % 50'sinde, özellikle ateroskleroza olan hastalarda yüksek bulunmuştur (Adiloglu ve ark. 2005). Ancak, KAE'ye sahip olan hastalarda aterosklerozda bulunduğundan net bir ayırım yapılamamıştır. Spesifik biyobelirteçler olmasalar da enflamatuvar hücreler rneğिन; lökosit , monosit ve CRP, KAE ile ilişkili bulunmuştur (Li ve ark. 2009). İzole KAE hastalarında adezyon molekülleri olan ICAM ve VCAM'ın KAE ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Turhan ve ark. 2005). Endotel disfonksiyonu koroner arter ektazi gelişimde rol oynayabilir. Endokan ve trombomodulin (TM), endotelden salınan ve işlev bozukluğu ile ilişkili iki biyobelirteçtir. Baysal ve ark. izole KAE'li hastalarda bu belirteçlerin düzeylerini değerlendirdikleri bir çalışmada, KAE grubunda hem endokan ($p = 0,006$) hem de TM düzeylerini ($p=0,007$) kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Baysal ve ark. 2018). Özellikle son zamanlarda KAE'de prolidaz için yapılmış konsantrasyon ve aktivite çalışmaları mevcuttur (Bakuy ve ark. 2014; Bayram ve ark. 2019; Baspınar ve ark 2016; Aktürk ve ark. 2014).

2.3.5. Koroner Arter Ektazi ve Genetik Yatkınlık

Koroner arter ektazi patogenezinde genetik yatkınlığın rolüne bakıldığında, renin-anjiyotensin sistemindeki ACE insersiyon/delesyon "ID" polimorfizmi ilişkili bulunmuştur. ACE insersiyon/delesyon "ID" polimorfizminin anevrizmal dilatasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Pola ve ark. 2001). Gulec ve arkadaşlarının KAE hastalarında yaptığı bir çalışmada ACE geni "DD" genotipinin KAE gelişimi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Gulec ve ark. 2003). Benzer sonuçlar Uyarel ve ark. tarafından da elde edilmiştir (Uyarel 2005). Ek olarak, Ozbay ve ark. tarafından anjiyotensin-konverting enzim inhibitörü tedavisi üzerine yapılan bir çalışmada, KAE hastaları ilaç tedavisi aldıktan sonra, hs-CRP seviyelerinin anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur (Ozbay ve ark. 2007). Bu alışmalar ışığında, inflamasyon ve ACE aktivitesinin KAE gelişimi ile ilişkili olduğu ve ACE inhibitörü ile tedavinin periferel kandaki enflamatuvar aktivite seviyesini azalttığını söylenebilir. ACE polimorfizminin ve ailesel hiperkolesteroleminin ektazinin gelişimine dolaylı etkisi olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. (Antoniadis ve ark. 2008). Yakın zamanda Yalcin ve ark.

tarafından yapılan bir çalışmada, endotelial nitrik oksit sentazın eksprese edildiği e-NOS genindeki c.894 G>T değişiminin mutant TT genotipinin, KAE hastalarında kontrollere göre daha sık görüldüğü ve KAE için bir risk faktörü olabileceğini öne sürülmüştür (Yalcin ve ark. 2014). Hsu ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, hOGG1 geninin Ser326Cys değişiminin, Çin popülasyonunda ektazi gelişimi şüphesiyle yeni bir genetik belirteç olabileceği gösterilmiştir (Hsu ve ark. 2014). Yakın zamanda yayınlanan KAE'de genom çapında bir ilişki çalışmasında, *TLR6* ve *NOTCH4* genlerinin, KAE hastalarında normal koroner arterleri olan hastalara kıyasla anlamlı metilasyon profillerine sahip olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca, KAE hastalarında daha düşük *TLR6* protein seviyeleri tespit edilmiştir (Lu 2017). Ekmekçi ve ark.nın çalışmasında ise KAE grubunda eNOS geni +a/b polimorfizmi “a” allel sıklığı kontrol grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (p=0.027). Araştırmacılar bu sonuçlarına dayanarak e-NOS 4a/b intron polimorfizminin KAE riskinde artışla ilişkili olabileceğini savunmuşlardır (Ekmekçi ve ark. 2013). KAE risk faktörü olarak araştırılan biyobelirteçler arasında fibrinojen düzeyleri ve ilişkili gen varyasyonları yer almaktadır. Lokal inflamatuvar hastalıklar için fibrinojenin risk faktörü olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (Danesh ve ark. 2005). Yüksek plazma fibrinojen düzeyi, kardiyovasküler hastalık insidansı ve mortalite için bir risk faktörü olarak tanımlanmış (Kannel ve ark. 1987) ve β -fibrinojen -455 G/A genotiplerinin koroner arter hastalığı ve miyokard enfarktüsü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Folsom ve ark. 2001). β -fibrinojen gen polimorfizmlerinin plazma fibrinojen seviyelerini etkilediği de gösterilmiştir (Thomas ve ark. 1994). İlk kez İçli ve ark. tarafından KAE hastalarında β -fibrinojen genindeki -455 G / A polimorfizmi fibrinojen sentez hızındaki artış ile ilgili olarak araştırılmıştır (İçli ve Altınbaş 2013). Araştırmacılar KAE ve kontrol grubunda yaptıkları çalışmada nadir A allel sıklığının KAE hastalarında yüksek olduğu (p=0.004) bulgularına dayanarak β -fibrinojen -455 G>A gen değişiminin KAE için risk faktörü olabileceğini önermişlerdir (İçli ve Altınbaş 2013). Toplumumuzda yapılan son çalışmalarda proinflamatuvar/inflamatuvar sitokin düzeylerinin ve ilişkili genetik belirteçlerin KAE patojenezindeki etkileri incelenmiştir (Ser 2018; Kılıcarslan 2019). Bu çalışmalardan birinde anti-inflamatuvar sitokin TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 gen varyasyonlarının KAE riski ile ilişkisi gözlenmezken, KAE hastalarında serum TGF β düzeylerinin düşük olduğu bildirilmiştir (Ser 2018). Diğer çalışmada ise KAE hastalarında Lizil oksidaz (LOX) genine ait fonksiyonel rs1800449 (G473A) polimorfizmi ve serum

inflatuar sitokin düzeyleri incelenmiştir. Lizil oksidazlar (LOX) kollajen ve elastin çapraz bağlantılarının oluşumuna katkı sağlayan ve bu şekilde bağ dokunun düzenlenmesinde yer alan ekstraselüler matriks enzim ailesinde yer alırlar. Daha önceki çalışmalarda düşük *LOX* düzeyleri aortik anevrizma ile ilişkilendirilmiştir (Maki ve ark 2002). KAE hastalarında *LOX* rs1800449 (G473A) polimorfizminin incelendiği bir çalışmada *LOX* gen polimorfizmi ve KAE riski arasında ilişki gözlenmezken, KAE için risk parametreleri olan TNF-alfa ($p=0.05$), sP-Selectin ($p=0.018$) düzeyleri, *LOX* rs1800449 varyasyonu taşıyan KAE hastalarında yüksek bulunmuştur (Kılıcarslan 2019).

Prolidaz enzim konsantrasyonu ve aktivitesinin çalışıldığı araştırmalarda, farklı popülasyonlarda farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Serum prolidaz düzeyi ailevi akdeniz ateşi hastalarında serum incelenmiş olup, hasta grubunda prolidaz düzeyi daha yüksek ($p=0,018$) bulunmuştur (Bayram ve ark. 2019). Başpınar ve ark. ankilozan spondilitli hastalarda yaptığı bir çalışmada prolidaz düzeyi hastalığın aktif seyrettiği grupta en düşük görülürken sağlıklı kontrol grubunda ise en yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) (Baspınar ve ark 2016). Bakuy ve arkadaşlarının koroner arter anevrizma üzerine yaptığı bir çalışmada serum prolidaz düzeyi kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,001$) bulunmuştur (Bakuy ve ark. 2014). Akturk ve ark. izole KAE hastalarında serum prolidaz aktivitesi üzerine yaptığı bir çalışmada ise, KAE grubunda serum prolidaz aktivitesi anlamlı derecede yüksek ($p<0.001$) bulunmuştur (Akturk ve ark. 2014).

Yukarıda görüldüğü üzere KAE etyopatogenezinin aydınlatılması için kapsamlı klinik ve genetik çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda KAE hastalarında biyokimyasal ve genetik belirteç olarak araştırdığımız prolidaz enzim düzeyiyle yapılmış sınırlı sayıda araştırma mevcuttur, yapılan çalışmalar daha çok enzimin aktivitesi üzerinedir. Prolidaz enzim düzeyi daha önce KAE hastalarında çalışılmamıştır. Tez çalışmamızda ilk defa prolidaz enzim düzeyleri ile birlikte prolidazı kodlayan PEPD geninin DNA diziliminde gözlenen yaygın ve nadir varyantlar incelenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Seçimi

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 25.5.2018 tarih ve 10 sayılı toplantısında onaylanan tez çalışmasında iki örnek grubu kullanıldı. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kardiyoloji Enstitüsü tarafından takip edilen koroner arter ektazi tanısı almış 76 kişi hasta grubu ve normal koroner artere sahip 76 kişi ise kontrol grubu olmak üzere oluşturuldu. Hasta ve kontrol gruplarından açlık kan örnekleri alındıktan sonra örnekler uygun koşullarda hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırıldı ve serumları ayrıldı.

Alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi. Her örnek için *PEPD* gen bölgesinin 15 ekzonu thermal cycler cihazında denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamalarından geçerek PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle çoğaltıldı. Çoğaltılan bölgeler agaroz jel elektroforeziyle ve NanoDrop cihazında saflık ve miktar tayinleri yapılarak kontrol edildi. Yeni nesil dizileme yöntemiyle PCR ampikonları; tagmentasyon, amplifikasyon, kütüphane normalizasyonu gibi aşamalardan geçirilerek tek zincirli hale getirildi ve MiSeq cihazına yüklendi. Yapılan okumaların analizi gerçekleştirilerek referans diziyle arasındaki farklılıklar belirlendi. Belirlenen gen varyasyonlarının klinik ve biyokimyasal parametrelerle ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirildi.

Uygun kalite değerlerinde olan örneklerin kütüphane hazırlama çalışmalarında, Nextera XT Amplicon kiti kullanıldı. Uygulama süresince üretici firmanın protokolleri uygulandı. Örnekler ardından Illumina MiSeq yeni nesil dizileme platformu ve kimyasalları kullanılarak, üretici protokollerine göre dizilendi. Örnek başına ortalama 200 Kb veri elde edildi. Dizileme sonrasında elde edilen dizi verilerinden hedef konumdaki okumalar filtrelenerek analize hazır hale getirildi.

Yapılan çalışmada yaş ortalaması $61,96 \pm 1,21$ olan koroner arter ektazi tanılı hasta grubundaki bireylerin 54'ü erkek (%71,1) ve 22'si (%28,9) kadındır. Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin ise 47'si erkek (%61,8), 29'u kadın (%38,2), yaş ortalamaları ise $59,92 \pm 0,94$ 'dir. Kontrol ve hasta grupları arasında yaş ortalaması değerleri ($p=0,189$) ve cinsiyet dağılımı ($p=0,229$) açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Sigara kullanımı ise her iki grupta da benzer düzeydedir.

Hasta grubunu oluşturan koroner arter ektazi tanısı almış 76 kişinin 46'sında (%60,5) CX damar etkilenmesi mevcut olup, 30'unda (%39,5) CX damar etkilenmesi yoktur. Hasta grubunda 45 (%59,2) kişide RCA damar etkilenmesi mevcut iken 31 (%40,8) kişide RCA damar etkilenmesi yoktur. Hasta grubunda 31 (%40,8) kişide LAD damar etkilenmesi mevcut iken 45 (%59,2) kişide LAD damar etkilenmesi yoktur. Hasta grubunda 8 (%10,5) kişide LMCA damar etkilenmesi mevcut iken 68 (%89,5) kişide LMCA damar etkilenmesi yoktur. Hasta grubunu oluşturan 76 KAE hastasının 45'inde (%59,2) tek koroner arter etkilenmesi mevcut iken, 31'inde (%40,8) çoklu damar etkilenmesi mevcuttur.

3.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

76 hasta ve 76 kontrol grubu örneği olmak üzere toplamda 151 kan örneğinden DNA izolasyonu Jena Bioscience marka kit kullanılarak elde edildi. DNA izolasyonunda aşağıda bulunan protokol uygulanmıştır. Protokol sonunda elde edilen DNA örneklerinin NanoDrop Spektrofotometre cihazı kullanılarak DNA miktarları ve saflık oranları belirlenmiştir. Ardından tüm örnekler bir sonraki aşamada kullanılmak üzere 4°C'ye kaldırılmıştır.

DNA İzolasyon Kiti Protokolü

A. Örnek Hazırlama

1. 200 µl kan üzerine 1 ml "Blood Lysis Buffer" konulup, pipetaj yapıldı.
(10 dk. buz üzerinde inkübasyon yapıp, beklerken 2-3 kez vortekslendi.)
2. 10.000 g'de 10 dk. santrifüj yapıldı. (Beyaz kan hücreleri çöktürülür)
Supernatant atıldı.

B. Hücre Parçalama

1. 300 µl "Lysis Buffer" ve 2 µl RNase A pellete eklendi. 30-60 saniye vortekslendi.
2. 8 µl proteinaz K eklenip pipetaj yapıldı.
3. 60 °C'de 10 dk. inkübasyon yapıp, 5 dk. buz üzerinde soğutuldu.
4. 300 µl "Binding Buffer" eklenip ve vortekslendi.
5. Buz üzerinde 5 dk. inkübasyon yapıldı.
6. 10.000 g'de 5 dk. santrifüj edildi.

7. Supernatant kolon aktivasyon işlemi sonrası kolona yüklendi.

C. Spin Kolon Aktivasyonu (Opsiyonel)

1. Spin kolon toplama tüpüne monte edildi.
2. 100 µl “Activation Buffer” kolona eklenip 10.000 g’de 30 saniye santrifüj edilip toplama tüpündeki içerik atıldı. Membranın kurumasına izin vermeden hemen diğer işlemlere geçildi.

D. Kolona Yükleme

1. Kolona yüklenen süpernatant 10.000g’de 1 dakika santrifüj edildi.
2. Toplama tüpündeki içerik atıldı.

E. Primer Yıkama

1. 500 µl “Washing buffer” kolona eklendi.
2. 10.000 g’de 30 sn. santrifüj edildi.
3. Toplama tüpündeki içerik atıldı.

F. Sekonder Yıkama

1. 500 µl “Washing buffer” kolona eklendi.
2. 10.000 g’de 30 sn. santrifüj edildi.
3. Toplama tüpündeki içerik atıldı.
4. Boş kolon 10.000 g’de 1 dk. daha santrifüj edildi.
5. 2 ml eppendorf tüpe hasta ismi yazılıp kolon tüp üzerine yerleştirildi.

G. Elüsyon Tampon Aşaması

1. 40-50 µl “Elution Buffer” kolonun merkezine konulur. Oda sıcaklığında 1 dk. inkübasyon yapıldı.
2. 10.000 g’de 2 dk. santrifüj edildi.
3. Elde edilen DNA +4 °C veya -20 °C’ye kaldırıldı.

Protokol sonunda elde edilen DNA örneklerinin Nano Drop Spektrofotometre kullanılarak DNA miktarları ve saflık oranları belirlenmiştir.

PEPD Geni Ekzonlarının PCR Amplifikasyonu

PEPD geninin her bir ekzonu için her örnekte MiSeq dizileme öncesi PCR amplifikasyonu gerçekleştirildi. Ardından Qubit ölçümleri gerçekleştirildi. Her bir ekzonun PCR'ı için gerçekleştirilen protokol ve PCR programı Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'deki gibidir.

Tablo 3-1: PEPD Geni Ekzonları İçin Gerçekleştirilen PCR Protokolü

10X Taq Buffer	5 µl	
dNTP mix (2 Mm)	5 µl	
Forward primer	0,5 µl	(0,1-1,0 µM)
Reverse primer	0,5 µl	(0,1-1,0 µM)
25 mM MgCl ₂	1,5 µl	(1-4 mM)
DNA	2 µl	(10pg - 1µg)
Taq DNA Polimeraz	0,5 µl	(1,25 U)
Distile su	36 µl	
Toplam	50 µl	

Tablo 3-2: PCR Programı

İlk Denatürasyon	95	3 dakika	
Denatürasyon	95	30 saniye	
Bağlanma	X	30 saniye	(Döngü)
Uzama	72	1 dakika	
Final uzama	72	1 dakika	

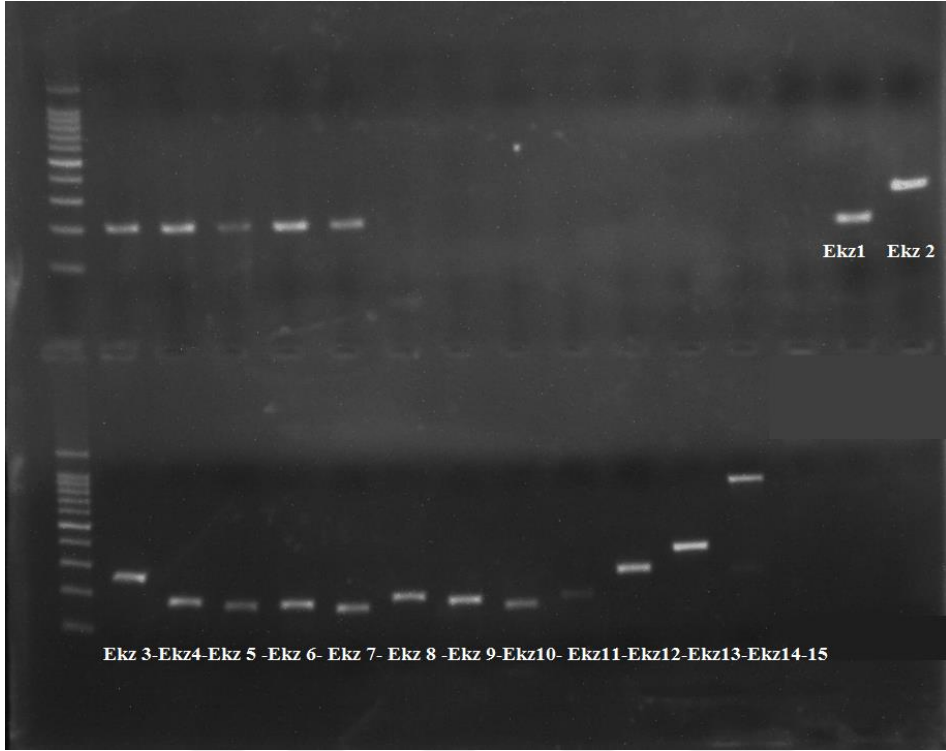
X: PCR programında her ekzon için ayrı dizayn edilen primerlerin bağlanma dereceleri farklıdır. Her ekzonun bağlanma sıcaklığı Tablo 3-3'de belirtilmiştir.

Tablo 3.3'de her bir ekzon için yapılan PCR'da kullanılan forward ve reverse primerler ile bu primerlerin Tm değerleri yer almaktadır.

Tablo 3-3: *PEPD* Geni 15 Ekzonunun PCR'ı İçin Kullanılan Primer ve Tm Değerleri

Forward Primer Adı	Forward Primer Sekansı	Reverse Primer Adı	Reverse Primer Sekansı	F-Tm °C	R-Tm °C
PEPD-1F	AGGAGGTGGGTCAAGGACTC	PEPD-1R	GACACCCATGCCCTCTC	62,5	60,7
PEPD-2F	CATGCTTGAGATGCTAACAG	PEPD-2R	AGGACAGCAGCACCATCAC	59,4	59,5
PEPD-3F	GGTCCCTCCTTGACCTC	PEPD-3R	CCCAGCTCTCTCATCCAC	60,7	61,7
PEPD-4F	CATGCTGAGCCATTACCAAG	PEPD-4R	GGAAGGAGAGGAACTCCAGG	58,4	62,5
PEPD-5F	GCATGTCATCTTCATTAGGCTTAG	PEPD-5R	TCTGCAGGAGAGGTGGC	61,8	57,2
PEPD-6F	AGGCCTCAGGGGTGCAG	PEPD-6R	GCTAGTGAAGGTGGGAGTGG	59,6	62,5
PEPD-7F	CTTGCTGGGACATGACAGAC	PEPD-7R	GTGTGGGCAGGAACAACAG	60,5	59,5
PEPD-8F	AGCCAGTGCCTCCTGAAAG	PEPD-8R	TGGAAACCCTTCATCCTCAC	59,5	58,4
PEPD-9F	CACGCTGTGTTACTGATCTGC	PEPD-9R	GTGTGTGTGCCACTGCG	61,3	57,2
PEPD-10F	TCGTGGAGTGGGGTGTG	PEPD-10R	TAACTGCCCTACCTCCTCCC	57,2	62,5
PEPD-11F	TCCTTCAGAGCCTGCTGC	PEPD-11R	GCCATCTTGAAGTTGAGTCC	58,4	58,4
PEPD-12F	GGGGAGCGGTAAGGTAAG	PEPD-12R	AGGCACCTGCCACATAGC	61,7	58,4
PEPD-13F	CACCACAGCCAGTGTGAGG	PEPD-13R	CTGCCTCCTAGAGTCCCACC	61,7	64,6
PEPD-14-15F	TCTCCTGATGAGGCCACG	PEPD-14-15R	AGCAGGCTGCCCATCAC	58,4	57,2

Miseq dizileme öncesinde izolasyonu yapılan her bir DNA örneğinin 15 ekzonunun her biri ayrı ayrı PCR yapıldıktan sonra, jel elektroforezinde kontrolleri sağlanır. Şekil 3.1’de, 70K kodlu örneğin MiSeq dizileme öncesi yapılan *PEPD* geninin 15 ekzonunun PCR jel elektroforezi görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 3-1: 70K kodlu örneğin *PEPD* genindeki 15 ekzonunun PCR sonrası jel elektroforezi görüntüsü.

PCR Sonrası Birleştirilen Poolların GeneJET Pürifikasyonu

PCR sonrası elde edilen ürünlerin saflaştırılması için GeneJET™ pürifikasyon kiti kullanılmıştır. GeneJET™ PCR Saflaştırma Kiti, DNA'nın PCR ve diğer enzimatik reaksiyon karışımlarından hızlı ve verimli bir şekilde saflaştırılması için tasarlanmıştır.

Bu kitte kullanılan silika bazlı metotta, yüksek katotropik tuz konsantrasyonunda nükleik asitlerin silika jel membranı üzerine seçici adsorbsiyonu esasına dayanır. Optimize edilen tampon çözeltiler diğer hücre proteinleri ve metabolitleri uzaklaştırırken sadece nükleik asidin jele bağlanmasını sağlar.

3.3. Nextera XT Amplikon Dizileme ile *PEPD* Gen Bölgesinin Analizi

PEPD geni tüm ekzonlarının MiSeq dizileme çalışmasında Nextera XT amplikon dizileme kiti kullanılmıştır. MiSeq dizileme aşamaları Tablo 3-4'de yer almaktadır(https://emea.support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/nextera_xt_dna_kit/documentation.html?langsel=/tr/).

Tablo 3-4: Nextera XT Amplikon Dizileme Aşamaları

Genomik DNA'nın Tagmentasyonu	}	Pre-PCR
Kütüphane Amplifikasyonu		
PCR Amplifikasyonu Sonrası Temizlenme	➔	Pre-PCR ve Post-PCR
Kütüphane Normalizasyonu ve	}	Post-PCR
Kütüphane Havuzlarının Oluşturulması		

Kullanılan Cihazlar

Illumina Miseq yeni nesil dizileme cihazı, ısı bloğu (Biosan), santrifüj (Universal 320 R Hettich soğutmalı santrifüj), Illumina High-Speed Microplate Shaker, vorteks (Scilogex), Qubit 3,0 Fluorometer, PCR cihazı (Aeris ESCO), UV Transilluminatör (Clear View), ELISA cihazı (ELx508), etüv (Thermo Scientific), Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific).

Kullanılan Sarf Malzemeleri

1,5 ml steril DNaz/RNaz içermeyen ependorf tüpü, 0,2 ml steril PCR tüpü, , 15 ml steril falkon, Microseal "A", Microseal "B", %100'lük ve %80'lik etanol, pipet uçları.

Genomik DNA'nın Tagmentasyonu

DNA'nın tagmentasyonu, Nextera transpozomu kullanılarak, genomik DNA'nın fragmanlara ayrılmasını ve etiketlenmesini sağlayan bir süreçtir. Bu aşamada, Amplicon Tagment Mix (ATM), Tagment DNA Buffer (TD), Neutralize Tagment Buffer (NT), 96 kuyucuklu PCR plate ve Microseal "B" adhesive seal kullanıldı.

Her biri 96 kuyucuklu olan PCR plate hazırlandı. Sırasıyla kuyulara 10 µl TD ve 1 ng DNA (5 µl) eklenerek pipetaj yapıldı. Her kuyuya 5 µl ATM eklendi, 10 kez pipetaj yapılarak karıştırıldı ve ardından Microseal "B" ile kapatıldı. 1 dakika 20 °C'de 280xg'de santrifüjlendi. Önceden proglamlanan PCR cihazında çalışıldı. Program çalışılıp 10 °C'ye ulaştığında, transpozomlar halen aktif olduğu için vakit kaybetmeden her kuyuya 5 µl NT eklendi. 10 kez pipetaj yapılarak karıştırıldı ve Microseal 'B' ile

kapatıldı. Ardından 1 dakika 20 °C’de 280 x g’de santrifüj edildi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

Kütüphane Amplifikasyonu

Bu aşamada, sınırlı döngüye sahip bir PCR programı kullanılarak DNA miktarı çoğaltılır. Kullanılan malzemeler; Nextera PCR Master Mix (NPM), Index adapters (tüp ya da plate), Microseal “A” adhesive filmdir. NPM ve index adaptörler -25 °C ile -15 °C arasında saklanmalıdır. Index adaptörler oda sıcaklığında, NPM ise buzda 20 dakika çözölmelidir. NXT PCR programı Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Ön ısıtma için 100 °C’ye, reaksiyon miktarı için ise 50 µl’ye ayarlandı.

Tablo 3-5: Kütüphane Amplifikasyonu PCR Programı

-72 °C de 3 dakika	
-95 °C de 30 saniye	
-95 °C de 10 saniye	12 Döngü
-55 °C de 30 saniye	
-72 °C de 30 saniye	
-72 °C de 5 dakika	
-10 °C de tutuldu	

PCR Amplifikasyonu Sonrası Temizleme

Bu aşamada, çoğaltılmış kütüphaneleri saflaştırmak için “single-sided bead” kullanılır. Kullanılacak malzemeler; Agencourt AMPure XP boncuklar (AMPure XP beads), yeni hazırlanmış 80% etanol (EtOH), Resuspension Buffer (RSB), 2 adet 96 kuyucuklu 0.8 ml polipropilen midi plate, 96 kuyucuklu PCR plate, Microseal 'B' adhesive seal, Microseal 'F' foil plakalar ve nukleazdan arındırılmış sudur.

AMPure XP bocuklar çalışmadan önce 2 °C ile 8 °C arasında saklandı. Çalışmadan önce 30 dakika bekletilerek oda sıcaklığına getirildi ve vortekslendi. RSB ise -25 °C ile -15 °C arasında saklanır. Çözünmesi için oda sıcaklığına getirildi ve vortekslenerek karıştırıldı. RSB çözündükten sonra 2 °C ile 8 °C arasında saklanabilir. PCR amplifikasyonunun temizlenme protokolüne göre; 280xg, 20 °C’de 1 dakika santrifüj edildi. PCR plate’inin her bir kuyucuğundan 50 µl supernatant alınarak yeni midi plate’e aktarıldı. Supernatantın AMPure XP boncuklarının hacmine oranı 3:2’dir.

Eğer 50 µl'den daha az miktarda süpernatant aktarılırsa AMPure XP boncuklarının hacmini ayarlamak gereklidir. Supernatant içeren her bir kuyuya 30 µl AMPure XP boncuklar eklendi. Seal Plate plaka ile kapatıldı ve 1800 rpm'de 2 dakika boyunca çalkalandı. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Plate 2 dakika manyetik standa'da bekletildi. Süpernatant dikkatlice atıldı. 2 defa plate manyetik stand üzerindeyken kuyucuklar %80'lik 200ml yeni hazırlanmış etanol ile yıkandı. 30 saniye inkübe edildi ve ardından boncuklara zarar verilmeden supernatant atıldı. EtOH pipetle alındı. Manyetik stand üzerinde 15 dakika hava ile kurutuldu ve üzerinden alındı. Taneciklere 52.5 µl RSB eklendi. Plaka kapatıldı ve ardından 1800 rpm'de 2 dakika boyunca bir plaka çalkalayıcı kullanıldı. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi Manyetik stand üzerine yerleştirildi ve sıvı temizlenene kadar (~ 2 dakika) beklendi. Yeni bir 96-kuyucuklu PCR plakasına 50 µl süpernatant aktarıldı.

Kütüphane Normalizasyonu

Bu işlem, kütüphane havuzlarını daha eşit gösterimini sağlamak için Nextera XT Index kitleri ile yapılan miktar normalizasyonudur. Aşağıdaki normalizasyon protokolü izlenmiştir.

Kütüphane normalizasyonunda; Kütüphane Normalizasyon Katkı Maddeleri 1 (LNA1), Kütüphane Normalizasyon Boncukları 1 (LNB1), Kütüphane Normalizasyon Yıkama 1 (LNW1), Kütüphane Normalizasyon Depolama Tamponu 1 (LNS1), 0.1 N NaOH (taze), (96 örnek için 3 ml) 96 kuyucuklu 0.8 ml polipropilen derin oyuklu saklama plakası (orta plaka), 96 kuyucuklu PCR plakası, 15 ml konik tüp, Microseal 'B' yapışkan contaları kullanıldı.

Tüm çökeltilerin çözüldüğünden emin olmak için LNA1'i kuvvetlice vortekslendi. LNB1, en az 1 dakika iyice vortekslendi. Tüm boncuklar yeniden süspanse edilinceye ve tüpün alt kısmında ters çevrildiğinde boncuk bulunmayana kadar tekrarlandı. LNA1 için her zaman geniş çaplı bir pipet ucu kullanıldı. Mevcut deney için sadece gerekli miktarda LNA1 ve LNB1'i karıştırıldı. Kalan LNA1 ve LNB1'i önerilen sıcaklıklarda ayrı bir yerde saklandı. Solüsyonun viskozitesi nedeniyle boncukları yavaşça aspire edildi ve dağıtıldı.

PCR platede her kuyucuğa denk gelecek şekilde yeni bir midi plate'de karşılık gelen kuyucuklara 20 µl süpernatant aktarıldı. LN master mix hazırlamak için LNA1 (46 µl) ve LNA2 (8 µl) olarak her bir örneğe olacak şekilde falkon tüpte birleştirildi.

Karıştırmak için 10 kez pipetlendi. Her bir kuyuya 45 µl LN master mix aktarıldı. Plakayla kapatıldı ve ardından 1800 rpm'de 30 dakika boyunca bir plaka çalkalayıcı kullanıldı. Manyetik stand üzerine yerleştirildi ve sıvı temizlenene kadar (~2 dakika) beklendi. Boncuklara müdahale edilmeden tüm süpernatant atıldı. Her bir oyuğa 45 µl LNW1 eklendi, plakayı kapatılıp, 1800 rpm'de 5 dakika boyunca bir plaka çalkalayıcı kullanıldı, manyetik stand üzerine yerleştirildi ve sıvı temizlenene kadar (~2 dakika) bekletildi. Boncuklara müdahale etmeden tüm süpernatant atıldı. Ve bu yıkama aşaması iki defa tekrarlandı. Her bir kuyuya 30 µl 0.1 N NaOH eklendi. Plaka ile kapatıldı ve 5 dakika boyunca 1800 rpm'de bir plaka çalkalayıcı kullanıldı. SGP etiketli yeni bir 96-kuyucuklu PCR plakasının her bir kuyucuğuna 30 µl LNS1 eklendi. 5 dakikalık elüsyon tamamlandıktan sonra, midi plakasındaki tüm numunelerin yeniden süspansiyon edildiğinden emin olunmalıdır. Değilse, tekrar süspansiyon haline getirebilmek için, çalkalayıcı kullanılmalıdır. Manyetik bir stand üzerine yerleştirildi ve sıvı temizlenene (~2 dakika) kadar bekletildi. Midi plakanın her bir kuyucuğundan SGP plakasının karşılık gelen kuyucuklarına 30 µl süpernatant aktarıldı. Örnek plakası kapatıldı ve daha sonra 1000×g'de 1 dakika santrifüjlendi. Dizileme sisteminde çalışılma için elde edilen kütüphaneler başlangıç konsantrasyonuna seyreltildi.

3.4. MiSeq Dizileme Sonrası Elde Edilen Ham Veriyi Analiz Etme

MiSeq dizileme işleminden sonra elde edilen verinin analize uygun hale getirilebilmesi için aşağıda belirtilen aşamalardan geçmesi gerekmektedir. Sırasıyla bu aşamalar gerçekleştirilmiştir.

1. MiSeq cihazında yürütme başlatılırken her bir pool için çıktı datası olarak FastQ ve ardından hizalanıp, haritalanmış datayı içeren BAM datası oluşturulacak şekilde gerekli seçimler yapıldı.
2. Dizileme sonucunda elde edilen FastQ dosyalarındaki dizi okumaları, BWA (Burrows Wheeler Aligner) aracı MiSeq cihazındaki dahili yazılım kullanılarak referans genomu (GRCh37/hg19) hizalandı ve BAM dosyası haline çevrilerek, analizin ilerleyen adımlarında işletimsel hız ve zaman kazanımı için kullanışlı hale getirildi.
3. BAM dosyasındaki PCR duplikasyonları Picard paketi dahilindeki MarkDuplicates aracı ile işaretlendi ve analizin yanlış ya da eksik bilgi vermesi engellenmek üzere gerekiyorsa bu PCR duplikasyon sekansları BAM dosyasından silindi.

4. Son halini almış BAM dosyasında referans genoma hizalanmış ve kayıt altına alınmış her nükleotidin Kalite (Q) skoru bulunur fakat sistematik hataların sıfıra indirgenmesi ve tutarlı veriler elde edilmesi amacıyla yine GATK paketi içerisinde bulunan BaseRecalibrator aracı ile kalite skorları rekaliibrasyona tabi tutuldu ve yine GATK 4.0'da dahil edilmiş olan ApplyBQSR aracı ile gerekli düzenlemeler işlendikten sonra nihai dosya elde edilmiş oldu

5. Ardından bu BAM dosyası kullanılarak GATK dahilinde bulunan HaplotypeCaller aracı ile ham ve son halini almamış varyant listesi dosyası (VCF) elde edildi.

6. Elde edilen Bu VCF dosyasındaki varyantlar, varyasyon türüne göre SelectVariants aracı ile tek nokta mutasyonları (SNP) ve insersiyon-delesyon (Indel) mutasyonları olarak iki sınıfa ayrıldı. Bu iki dosya VariantFiltration aracı kullanılarak tutarlı varyant filtrelemesi yapıldı ve bu işlemler sonucunda oluşan iki ayrı dosya birleştirilerek son ve toplu VCF oluşturuldu.

7. VCF dosyası DNAnalyzer Annotation Pipeline'nın anotasyon basamaklarında kullanılmak üzere açıldı. Annovar, SnpEFF, VEP anotasyon araçları, veritabanları ve in house oluşturulmuş veritabanları kullanılarak varyantlar anlamlandırıldıktan sonra gerekli filtrelerden geçilerek ilgili hastanın klasörüne incelenmek üzere kaydedildi.

8. Oluşan sonuç excelindeki hedef genler ve ekzonlar filtrelendikten sonra ilgili ve anlamlı varyantlar nihai listesine erişildi.

9. In house filtreleme basamakları sonucunda elenmemiş, anlamlı ve şüpheli varyantlara denk geldiği takdirde BAM dosyası ve .bai uzantılı index dosyası IGV programında açılır ve VCF de saptanan varyant, IGV ile doğrulandı.

-IGV programı Bam dosyasındaki okumaların görsel olarak seçilen referans genoma bağlantılı şekilde gösterilmesini sağlar. Böylelikle varyantların doğruluğu ve okuma sayıları bu şekilde kontrol edilebilir.

-IGV açılıp soldaki sekmeden öncelikle çalışmanın yapıldığı ilgili referans genom yüklendi. Bu referans genom "Human hg19" olarak çalışılmaktadır.

-Referans genom yüklendikten sonra çalışılan hastanın .bam ve .bai uzantılı dosyaları "File" > "Load From File..." seçeneği seçilerek dosya konumundan yüklendi.

-Daha sonra ilgili gen ya da lokus “Go” kısmının yanındaki boşluğa yazılarak Go tıklanır ve ilgili nokta ve bölge görüntülendi.

-Böylelikle varyantlar görüldü, doğrulandı ve kalite kontrol bilgilerine erişilmiş oldu

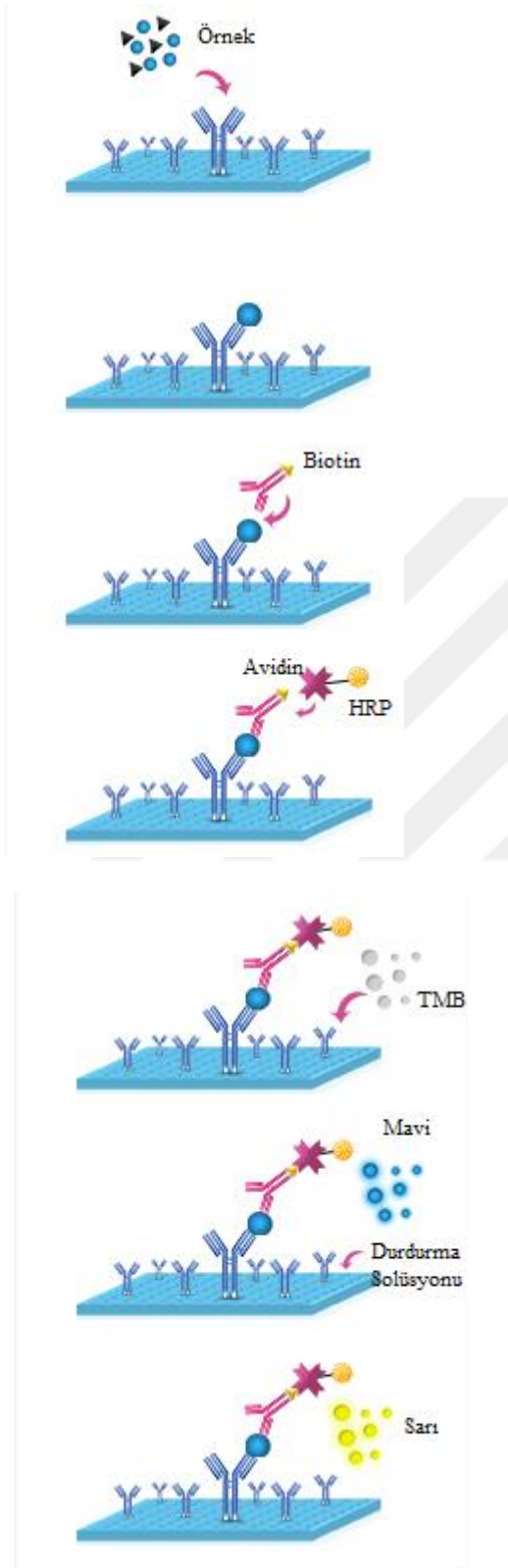
10. Hasta bazlı ve gen bazlı bu analizler sonucunda bulunan ve endikasyon ile örtüşen varyantlar, raporlanmak üzere listelendi.

3.5. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Çalışmada yer alan ve koroner anjiyografi yapılan hastalardan ve kontrol gruplarından kan örnekleri alındı. Biyokimyasal parametrelerden glukoz, HbA1c%, total-kolestrol, HDL-K, LDL-K, Trigliserid, ALT, AST, BUN, kreatinin, Na, K, Cl, WBC, Hgb, Hct, Plt, nötrofil, lenfosit, monosit, bazofil, eozonofil, TSH değerleri belirlendi. Transtorasik ekokardiyografiyle sol ventrikül sistolik fonksiyonları, Simpson yöntemiyle EF (%) olarak değerlendirildi. Ayrıca hastaların hipertansiyon, diyabet ve hiperlipidemi hastalıkları olup olmadığı belirtildi. Serum prolidaz seviyesi ölçümü için ise Elabscience Human PEPD (Peptidase D) ELISA Kiti kullanıldı.

3.6. ELISA

İnsan serum PEPD konsantrasyonlarının in vitro kantitatif tayini için Elabscience marka insan PEPD Elisa kiti kullanıldı. Kitin duyarlılığı 1.88 ng/ml'dir ve sandwich-elisa prensibine göre çalışıldı. Kitte bulunan Elisa plate önceden insan PEPD'ine özgü antikor ile kaplanmıştı. Standartlar ve örnekler, mikro ELISA plate kuyucuklarına eklendi ve spesifik antikorlar ile birleştirilmesi sağlandı. Daha sonra, insan PEPD ve Avidin-Horseradish'e özgü biyotinlenmiş bir tespit antikoru olan peroksidaz (HRP) konjugatı her bir kuyucuğa eklendi ve inkübe edildi. Ardından bağlanmayan bileşenler yıkandı. Substrat çözeltisi her bir kuyucuğa eklendi. Sadece biyotin ile tespiti içeren kuyucuklar mavi renkte görüldü. Enzim-substrat reaksiyonu, stop çözeltisinin ve rengin eklenmesiyle reaksiyon sarıya döndü. Optik dansite (OD) 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Şekil 3.2'de ELİSA çalışma protokülünün gösterimi yer almaktadır (<https://www.elabscience.com/PDF/Cate61/E-EL-H5575-Elabscience.pdf>). Örneklerin OD'si standart eğriyle karşılaştırarak, numunelerde insan PEPD konsantrasyonu hesaplandı.



Şekil 3-2: ELISA çalışma protokolü

1. Her kuyuya 100 μ L standart veya numune eklenir. 37 ° C'de 90 dakika boyunca inkübe edilir.

2. İnkübasyonun ardından bağlanmayan kısım ortamdaki uzaklaştırılır.

3. 100 μ L Biotinylated Detection Ab. 37°C' de 1 saat inkübe edilir. 3 kez yıkanır.

4. 100 konsantre HRP Konjugat eklenir. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir. 5 kez yıkanır.

5. 90 μ L Substrat Reaktifi eklenir. 37°C'de 15 dakika inkübe edin.

6. 50 μ L Durdurma Solüsyonu ekleyin. Plate kuyucuklarındaki mavi renk sarı renge döner.

7. Vakit kaybetmeden 450 nm'de okuma yapılır ve sonuçlar hesaplanır.

ELISA Reaktiflerini Hazırlama

1. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına (18~25 °C) getirildi.

OD ölçümünden 15 dakika önce cihaz ön ısıtma yapıldı.

2. Yıkama tamponu: 750 ml yıkama tamponu hazırlamak için 30 ml konsantre yıkama tamponu 720 ml distile suyla seyreltildi.

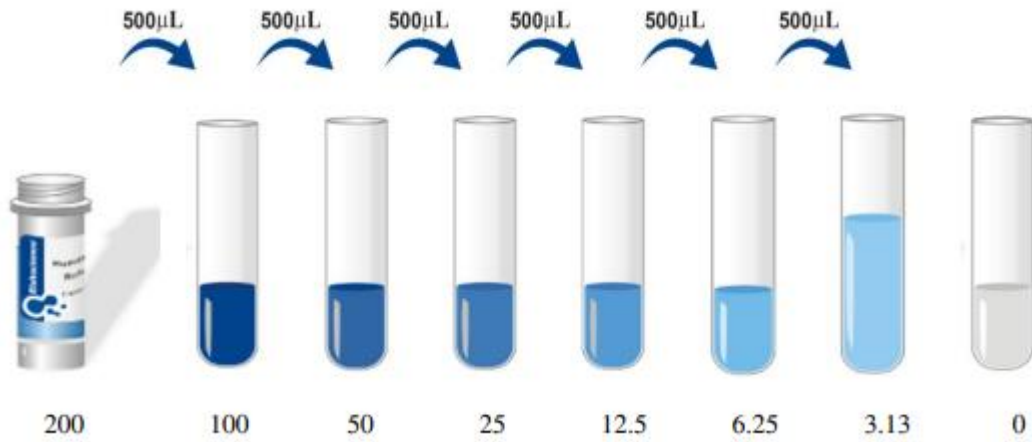
Not: Konsantre içinde kristaller oluştuysa, 40 °C su banyosunda ısıtılmalı ve kristaller tamamen çözünene kadar yavaşça karıştırılmalıdır.

3. Standart çalışma solüsyonu: Referans Standart, 1 dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüjlendi ve 1 ml referans standart&örnek diluent solüsyonu eklendi 10 dakika bekletildi ve birkaç kez alt üst edildi. Tamamen çözündükten sonra iyice pipetaj yapıldı. Böylelikle 200 ng/ml'lik standart çalışma çözeltisi elde edildi.

Seyreltme yönteminde 7 eppendorf tüp alındı, her tüpe 500 µl standart&örnek diluent solüsyonu eklendi. 200 ng/ml standart çalışma çözeltisinin 500 µl 'si ilk tüpe pipetlendi ve 100 ng/ml çalışma çözeltisi üretmek için karıştırıldı. Diğer konsantrasyonlar için de bu adım tekrarlandı. Seri dilüsyon ile 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3.13, 0 ng/ml olacak şekilde gradyanlar oluşturulmuş oldu. Son tüp boş olarak kabul edildi. Şekil 3.3'de ELISA standardından seri dilüsyonların oluşturulması gösterilmiştir.

4. Biotinlenmiş antikor çalışma solüsyonu: Deneyden önce her kuyuya 100 µl olacak şekilde toplamda gerekli olan miktar hesaplandı. Kullanmadan önce stok tüp santrifüjlendi, 100 kat konsantre biyotinlenmiş antikor solüsyonu 1 kat olacak şekilde seyreltildi.

5. Konsantre HRP konjugat çalışma solüsyonu: Deneyden önce her kuyuya 100 µl olacak şekilde toplamda gerekli olan miktar hesaplandı. Kullanmadan önce stok tüp santrifüjlendi, 100 kat konsantre HRP konjugat çalışma solüsyonu 1 kat olacak şekilde seyreltildi.



Şekil 3-3: ELİSA standardından seri dilüsyonların oluşturulması

Elisa Protokolü

1. Standart çözeltiler ilk iki sütuna eklendi. Solüsyonun her bir konsantrasyonu, her biri bir kuyucuğa 100'er µl olmak üzere yan yana kopyalandı. Diğer kuyucuklara 100 µl numuneler eklendi. Kuyucuklar plate sealer ile kaplanıp 37 °C'de 90 dakika boyunca inkübe edildi.

2. Sıvı her bir kuyucuktan aspire edildi. Her bir kuyucuğa 100 µL Biotinylated Detection Ab eklendi. Plate sealer ile kaplandı. Yavaşça karıştırıldı. 37 °C'de 1 saat inkübe edildi.

3. Çözelti her kuyucuktan aspire edildi, her kuyucuğa 350 ml yıkama tamponu eklendi. 1~2 dakika bekletildi, çözelti her kuyucuktan aspire edildi ardından kurulama kağıdıyla kurulandı. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı.

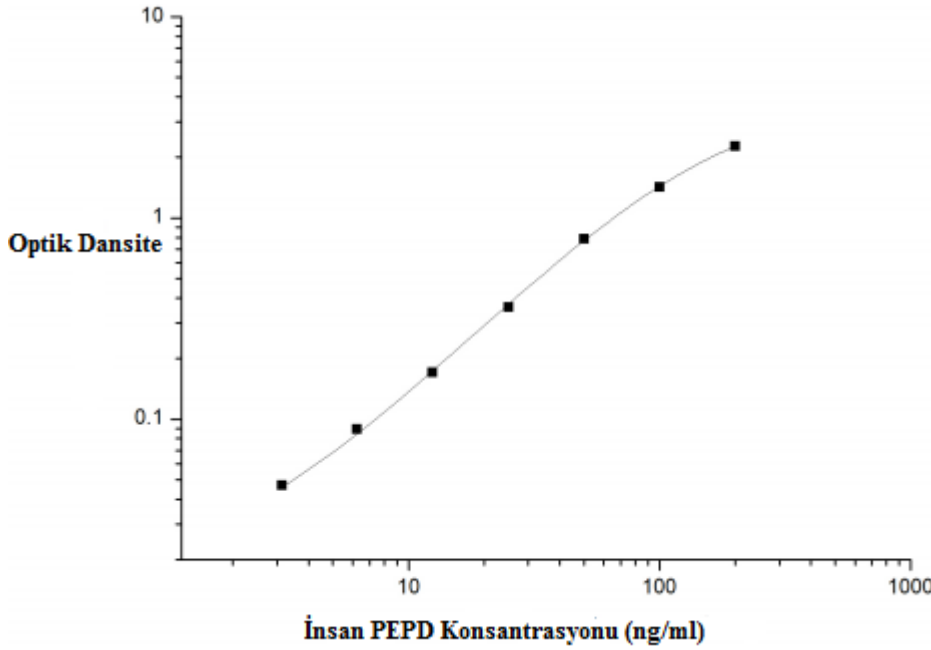
4. Her kuyucuğa 100 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plate sealer ile kaplandı, 30 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi.

5. Çözelti her bir kuyucuktan aspire edildi, yıkama işlemini 3. adımda yapıldığı gibi beş kez tekrarlandı.

6. Her bir kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi ekleyin. Yeni bir plate sealer ile kapatıldı. 37 °C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi.

7. Her kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu eklendi. (Not: Durdurma çözeltisinin eklenmesi substrat ile aynı sırada yapılmalıdır.)

8. Her bir kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) bir seferde 450 nm'ye ayarlanmış bir plate okuyucuda belirlendi. Şekil 3.4'de standart optik dansite/konsantrasyon grafiği yer almaktadır (<https://www.elabsience.com/PDF/Cate61/E-EL-H5575-Elabsience.pdf>).



Şekil 3-4: Standart optik dansite / konsantrasyon grafiği

3.7. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler

Deneysel aşama tamamlandıktan sonra, genetik değişimleri tespit edilen noktaların minör allel frekanslarına göre yaygın görülenleri SPSS (version 20.0) programında klinik ve biyokimyasal parametrelerle birlikte analiz edildi. Glukoz düzeyi gibi tanımlayıcı veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde analiz edilirken, niceliksel verilerin hasta ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırılması Student's t-test ve Mann-Whitney U test ile analiz edildi. Genotip verilerinin analizinde ikiden fazla değişken olduğunda ANOVA testi kullanıldı. Genotip ve allellerin karşılaştırılmalarında Hardy-Weinberg dengesi kontrol edildi ve Ki kare (χ^2) testi uygulandı. Gen sayma yöntemiyle ise allel frekansları hesaplandı. İstatistiki analiz sonuçları $p < 0,05$ güven düzeyinde değerlendirildi ve Odds oranı (OR) ile %95 güven aralığı (%95 CI) olarak risk etmenleri belirlendi. Haplotip analizi için Haplowiew programı kullanılarak genetik değişimler arası olası bağlantı dengesizliği tespit edildi.

4. BULGULAR

Çalışmada yer alan koroner arter ektazi hastaları ve sağlıklı kontrol grubuna ait demografik, klinik ve biyokimyasal özellikler tablo 4.1’de yer almaktadır. Buna göre koroner arter ektazi hasta grubunun; hipertansiyona sahip olma oranı (HT) ($p=0,006$), hiperlipidemiye sahip olma oranı (HL) ($p<0,001$), HbA1c ($p=0,026$), trigliserid ($p=0,048$), alanin aminotransferaz (ALT) ($p=0,036$), aspartat aminotransferaz (AST) ($p=0,027$), kreatinin ($p=0,021$) kontrol grubununkinden daha yüksektir. KAE grubunda, serum prolidaz düzeyi ($<0,001$) ve HDL-K ($p=0,02$) ise kontrol grubuna göre daha düşüktür.

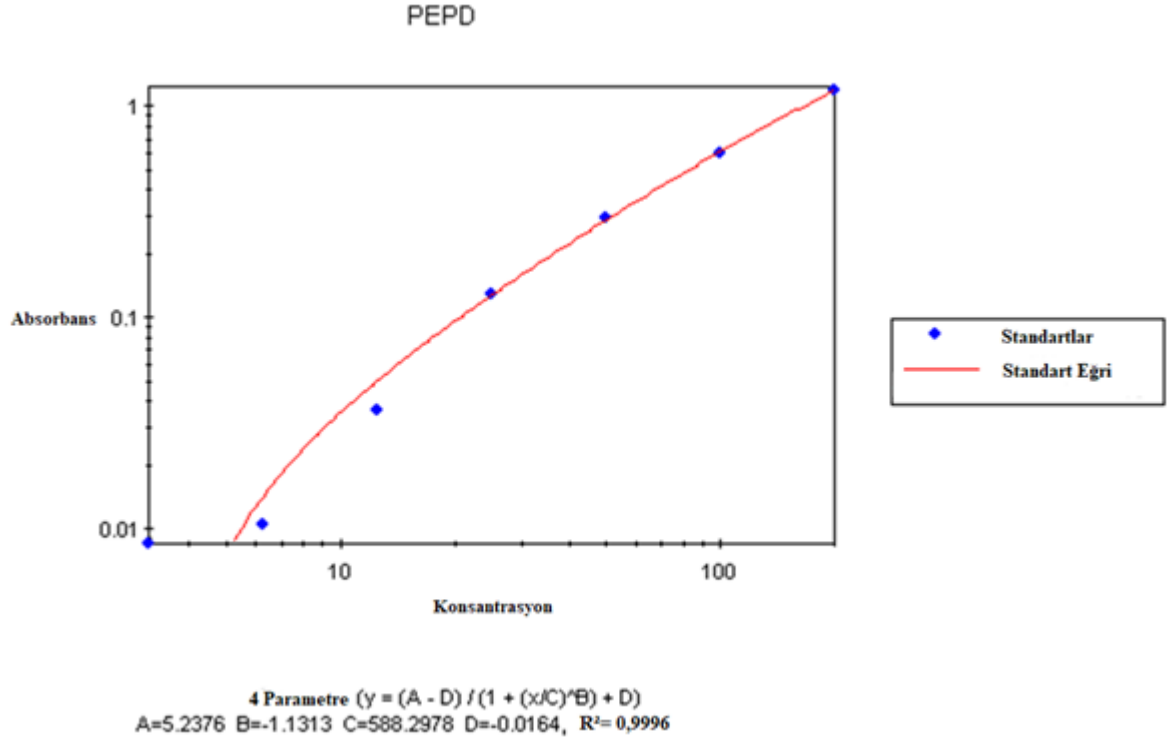
Tablo 4.1’de hasta ve kontrol gruplarının hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabete sahip olma oranları ile grupların birbirine olan anlamlılık derecesi verilmiştir. KAE hasta grubunda kontrol grubuna göre hipertansiyon prevalansı (KAE: %56,6 vs. Kontrol: %34,2; $p=0,006$, OR:2,506 %95 CI 1,300-4,829.) tip 2 diyabet prevalansı (KAE: %34,2 vs. Kontrol:%21,1; $p=0,07$ OR:1,950 %95 CI 0,942-4,035) ve hiperlipidemi prevalansı (KAE: %57,9 vs. Kontrol: %34,2; $p<0,001$ OR:3,375 %95 CI 1,722-6,616) istatistiksel olarak yüksek anlamlı gözlenmiştir.

KAE hasta ve kontrol grubu arasında incelenen diğer parametreler olan yaş, glukoz, total-K, LDL-K, TSH, kreatinin, BUN, Na, Cl, K WBC, Hb, Hct, Plt, lenfosit, nötrofil, monosit, bazofil, eozonofil, EF%, nötrofil/lenfosit, monosit/HDL-K, Plt/lenfosit ise gruplar arasında farklı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tez çalışmamızda yeni nesil dizileme yöntemi olan MiSeq ile koroner arter ektazi ve kontrol gruplarında *PEPD* geninde yaygın görülen ekzonik ve intronik varyasyonların genotip ve allel dağılımları Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında *PEPD* geni yaygın tespit edilen varyasyonların genotip ve allel dağılımlarında fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). KAE ve kontrol gruplarında görülen yaygın varyasyonların Hardy-Weinberg eşitliği (HWE)’ne uyumları da Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Yapılan istatistiki analiz sonucu, *PEPD* geninde yaygın görülen bu varyasyonlardan rs17579 G>A, rs17569 G>A, rs75449530 T>C, rs1061338 A>G ve rs16968070 T>C’nin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı HWE’ye uyumlu olarak gözlenmiştir ($p>0,05$).

Prolidaz Düzeyi ELISA Ölçüm Sonuçları ve Analizi

ELISA ölçümü sonucunda elde edilen KAE konsantrasyon-absorbans grafiği Şekil 4.1’de yer almaktadır. $R^2=0,99$ ’dur.

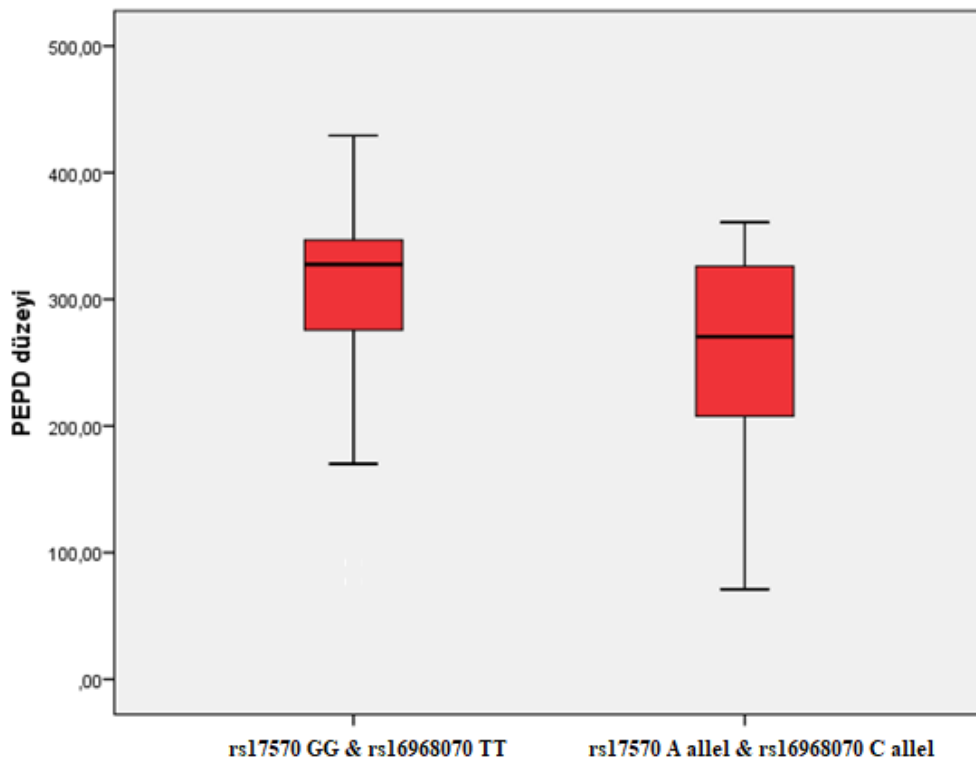


Şekil 4-1: Hasta grubunda ELISA konsantrasyon-absorbans grafiği

Hasta grubuna ait 75 örneğin elisa sonuçları $292,66 \pm 9,39$ ng/mL’dir. 75 kontrol grubuna ait örneğin elisa sonuçları ise $415,76 \pm 24,33$ ng/mL’dir. Hasta ve kontrol grubu örnekleri karşılaştırıldığında istatistiki olarak yüksek anlamlı farklılık görülmüştür $p < 0,001$, OR:123,09, CI:71,53-174,64.

KAE grubunda prolidaz düzeylerinin median değeri 322,45 ng/mL iken kontrol grubu medianı 454,28 ng/mL’dir.

Şekil 4.2’de KAE’de *PEPD* geni rs17570 GG ve rs16968070 TT wild type genotiplerinin birlikte taşıyan hastalar ile rs17570 A allel ve rs16968070 C allel’e sahip hastalar arasındaki serum prolidaz düzeyi grafiği yer almaktadır. Serum prolidaz düzeyi rs17570 GG ve rs16968070 TT wild type genotipleri taşıyan hastaların $301,19 \pm 9,67$ ng/mL iken rs17570 A allel ve rs16968070 C mutant allellerini taşıyan hastalarda $255,53 \pm 26,08$ ng/mL’dir (**p=0,058**, OR:45,65, CI: -1,55-92,86). Kontrol grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4-2: KAE hastalarında *PEPD* rs17570 GG ve rs16968070 TT ile rs17570 A allel ve rs16968070 C allel serum prolidaz düzeyleri

Tablo 4-1: Çalışma Gruplarının Karakteristik Özellikleri

	KONTROL (n=76)	KAE (n=76)	p Değeri
Yaş (yıl)	59,92±0,94	61,96±1,21	0,189
Prolidaz düzeyi (ng/mL)	415,76±24,33	292,66±9,39	<0,001
Glukoz (mg/dL)	110,07±4,66	117,63±4,81	0,261
HbA1c (%)	6,00±0,1	6,33±0,1	0,026
Total-Kolesterol (mg/dL)	187,89 ± 5,48	182,22±4,95	0,444
Trigliserid (mg/dL)	135,99±7,85	162,41±10,65	0,048
HDL-Kolesterol (mg/dL)	48,78±1,31	44,30±1,36	0,020
LDL-Kolesterol (mg/dL)	131,50±4,85	126,80±4,75	0,490
ALT (U/L)	22,32 ±1,29	29,72±3,04	0,027
AST (U/L)	20,68±0,83	25,17±1,93	0,036
TSH (uIU/mL)	2,26±0,15	2,11±0,2	0,560
Kreatinin (mg/dL)	0,82±0,02	0,91±0,02	0,21
BUN (mg/dL)	16,09±0,54	16,32±0,56	0,775
Na (mEq/L)	140,89±0,38	139,87±1,34	0,463
K (mEq/L)	4,51±0,06	4,44±0,05	0,458
Cl (mmol/L)	101,25±0,44	100,26±1,28	0,470
WBC(µL)	7819,74±286	8131,58±254,42	0,417
Hb (g/dL)	13,40±0,20	13,50±0,19	0,711
Hct (%)	39,37±0,75	39,94±0,52	0,540
Plt (µL)	236,171±7,590	225,644±7,226	0,317
Nötrofil (µL)	4717±254,05	4802±170,79	0,780
Lenfosit (µL)	2259±100,23	2457±174,33	0,325
Monosit (µL)	669,21±26,84	685,53±30,01	0,686
Bazofil (µL)	41,97±5,93	56,57±14,42	0,351
Eozonofil (µL)	2,56±0,19	2,50±1,43	0,815
EF (%)	-	55,79±0,99	-
HT, n (%)	26 (34,2)	43 (56,6)	0,006
HL, n (%)	26 (34,2)	44 (57,9)	<0,001
DM, n (%)	16 (21,1)	26 (34,2)	0,07
Nötrofil / Lenfosit	2,70±2,84	2,41±1,41	0,419
Monosit / HDL	14,87±7,57	16,66±8,08	0,159
Plt / Lenfosit	118,52±55,63	111,52±61,00	0,461

Hasta ve kontrol grubu arasındaki anlamlılık derecesi Student's t testi ile incelenmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak yer almaktadır. n:örnek sayısı, HbA1c: Hemogloblin A1c, Total-K:Total kolesterol, HDL-K:Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K:Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol ALT: Alanin transaminaz, AST: Aspartat transaminaz, TSH: Tiroid stimulan hormon, BUN: Kan üre azotu, WBC: Lökosit, Hb: Hemogloblin, Hct: Hematokrit, Plt: Trombosit, EF %: Kalp ejeksiyon fraksiyon yüzdesi, HT:Hipertansiyon, HL:Hiperlipidemi, DM: Diyabet, p: Anlamlılık değeri.

Tablo 4-2: Hasta ve Kontrol Gruplarında *PEPD* Geni Yaygın Polimorfizmlerinin Genotip ve Allel Dağılımı

		KONTROL (n=76)	KAE (n=76)
PEPD rs17570, G>A	Genotip (%) n		
	GG	(71,1) 54	(68,4) 52
	GA	(26,3) 20	(26,3) 20
	AA	(2,6) 2	(5,3) 4
	Allel (%) n		
	G	(84,2) 128	(81,6) 124
	A	(15,8) 24	(18,4) 28
HWE		p>0,05	p>0,05
PEPD rs17569, G>A	Genotip (%) n		
	GG	(75) 57	(78,9) 60
	GA	(21,1) 16	(19,7) 15
	AA	(3,9) 3	(1,3) 1
	Allel (%) n		
	G	(85,5) 130	(88,8) 135
	A	(14,5) 22	(11,2) 17
HWE		p>0,05	p>0,05
PEPD rs75449530, T>C	Genotip (%) n		
	TT	(73,7) 56	(72,4) 55
	TC	(23,7) 18	(26,3) 20
	CC	(2,6) 2	(1,3) 1
	Allel (%) n		
	T	(85,5) 130	(85,5) 130
	C	(14,5) 22	(14,5) 21
HWE		p>0,05	p>0,05
PEPD rs1061338, A>G	Genotip (%) n		
	AA	(78,9) 60	(67,1) 51
	AG	(19,7) 15	(27,6) 21
	GG	(1,3) 1	(5,3) 4
	Allel (%) n		
	A	(88,8) 135	(80,9) 123
	G	(11,2) 17	(19,1) 29
HWE		p>0,05	p>0,05
PEPD rs16968070, T>C	Genotip (%) n		
	TT	(88,2) 67	(81,6) 62
	TC	(11,8) 9	(18,4) 14
	Allel (%) n		
	T	(94,1) 143	(90,8) 138
	C	(5,9) 9	(9,2) 14
HWE		p>0,05	p>0,05

HWE: Hardy-Weinberg Eşitliği.

PEPD Yaygın Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi

PEPD geni rs17570 G>A (L435F) genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs17570 A alleli taşıyanların (GA+AA), GG genotipine sahip olanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük serum prolidaz düzeyine sahip olduğu gözlenmiştir. KAE hastalarında A alleleline sahip olanlarda (GA+AA) *PEPD* düzeyi $268,07 \pm 16,84$ ng/mL iken GG genotipine sahip olanlarda $307,31 \pm 10,72$ ng/mL bulunmuştur (**p=0,04**, OR:39,24, CI:1,35-77,13). Kontrol grubunda ise rs17570 A allelinin serum prolidaz düzeylerine KAE grubundakine benzer bir etkisi gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında *PEPD* 17570 mutant A alleli taşıyan bireyler seçilerek yapılan istatistik analiz sonucunda; KAE hastalarında *PEPD* düzeyi $268,07 \pm 16,84$ ng/mL iken kontrol grubunda $391,78 \pm 42,24$ ng/mL bulunmuştur (**p=0,01**, OR:123,70, CI: 30,50-216,91). *PEPD* 17570 GG genotipi taşıyan; KAE hastalarında *PEPD* düzeyi $306 \pm 10,01$ ng/mL iken kontrol grubunda $425,71 \pm 29,78$ ng/mL'dir (**p<0,001**, OR:119,71, CI:56,92-182,50).

Tablo 4-3: *PEPD* rs17570 G>A Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi

<i>PEPD</i> rs17570 G>A						
	Kontrol			KAE		
	GG	GA+AA	p	GG	GA+AA	p
Prolidaz (ng/ml)	425,71±29,78	391,78±42,24	0,52	307,31±10,72	268,07±16,84	0,04
Glukoz (mg/dL)	111,96±6,24	105,41±5,01	0,52	115,13±4,57	121,93±10,55	0,49
HbA1c (%)	6,06±0,13	5,86±0,08	0,37	6,38±0,11	6,25±0,20	0,57
Total-K(mg/dL)	190,98±6,6	180,32±9,86	0,38	197,88±5,09	186,25±10,28	0,58
HDL-K (mg/dL)	50,2±1,6	45,27±2,02	0,08	45,25±1,84	42,68±1,95	0,36
LDL-K (mg/dL)	135,26±5,84	122,27±8,54	0,22	121,50±4,73	135,89±9,92	0,19
Trigliserid (mg/dL)	124,85±6,87	163,32±20,47	0,08	165±14,67	157,96±14,54	0,75
ALT (U/L)	22,04±1,6	23±2,15	0,73	27,98±4,03	32,71±4,53	0,43
AST (U/L)	20,15±0,93	22±1,72	0,31	23,58±2,25	27,89±3,55	0,28

Hasta ve kontrol grupları arasındaki önemlilik derecesi alleller arasında Student's t testi ile incelenmiştir. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak yer almaktadır. HbA1c: Hemogloblin A1c, Total-K: Total kolesterol, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, ALT: Alanin transaminaz, AST: Aspartat transaminaz, p: Anlamlılık değeri.

PEPD geni rs17569 G>A (H377H) genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs17569 A alleli taşıyanların (GA+AA), GG genotipine sahip olanlara göre anlamlı derecede daha düşük aspartat transaminaz (AST) düzeyine (**p=0,007**) sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak AST seviyeleri normal referans sınırları içinde yüksektir. Kontrol grubunda ise, *PEPD* rs17569 A alleli taşıyanların (GA+AA), GG genotipine sahip olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek serum prolidaz düzeyine (**p=0,01**) sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4-4: *PEPD* rs17569 G>A Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi

<i>PEPD</i> rs17569 G>A						
	Kontrol			KAE		
	GG	GA+AA	p	GG	GA+AA	p
Prolidaz (ng/ml)	381,85 $\pm$ 26,09	515,70 $\pm$ 52,29	0,01	289,11 $\pm$ 9,60	305,78 $\pm$ 26,67	0,47
Glukoz (mg/dL)	111,51 $\pm$ 6,02	105,74 $\pm$ 4,63	0,59	119,35 $\pm$ 5,88	111,19 $\pm$ 6,08	0,49
HbA1c (%)	6,05 $\pm$ 0,11	5,87 $\pm$ 0,18	0,43	6,37 $\pm$ 0,12	6,19 $\pm$ 0,18	0,5
Total-K (mg/dL)	184,86 $\pm$ 6,17	197 $\pm$ 11,82	0,34	182,28 $\pm$ 5,87	182 $\pm$ 8,44	0,98
HDL-K (mg/dL)	47,79 $\pm$ 1,48	51,74 $\pm$ 2,73	0,19	43,88 $\pm$ 1,63	45,88 $\pm$ 2,22	0,55
LDL-K (mg/dL)	129,28 $\pm$ 5,49	138,16 $\pm$ 10,37	0,43	125,92 $\pm$ 5,60	130,13 $\pm$ 8,48	0,72
Trigliserid (mg/dL)	130,12 $\pm$ 7,67	153,58 $\pm$ 21,38	0,19	168,20 $\pm$ 13,0	140,69 $\pm$ 11,18	0,29
ALT (U/L)	21,35 $\pm$ 1,48	25,21 $\pm$ 2,60	0,19	31,25 $\pm$ 3,60	24 $\pm$ 4,97	0,33
AST (U/L)	20,51 $\pm$ 1,02	21,21 $\pm$ 1,27	0,71	26,78 $\pm$ 2,38	19,13 $\pm$ 1,38	0,007

Hasta ve kontrol grupları arasındaki önemlilik derecesi alleller arasında Student's t testi ile incelenmiştir. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak yer almaktadır. HbA1c: Hemogloblin A1c, Total-K: Total kolesterol, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, ALT: Alanin transaminaz, AST: Aspartat transaminaz, p: Anlamlılık değeri.

PEPD geni rs75449530 intronik varyantında T>C genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs7544930 C alleli taşıyanların (TC+CC), TT genotipine sahip olanlara göre, referans sınırları dahilinde, anlamlı derecede daha düşük aspartat transaminaz (AST) düzeyine ($p=0,027$) sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak AST seviyeleri normal referans sınırları içinde yüksektir. Kontrol grubunda ise, grubunda anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4-5: *PEPD* rs75449530 T>C Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi

<i>PEPD</i> rs75449530 T>C						
	Kontrol			KAE		
	TT	TC+CC	<i>p</i>	TT	TC+CC	<i>p</i>
Prolidaz (ng/ml)	399,84±28,74	459,53±45,32	0,28	293,71±9,5 5	289,98±23,33	0,86
Glukoz (mg/dL)	109±6,07	113,05±5,11	0,70	119,73±6,1 9	112,14±6,40	0,48
HbA1c (%)	6,01±0,12	5,99±0,17	0,93	6,40±0,13	6,16±0,15	0,32
Total-K (mg/dL)	183,50±6,29	200,20±10,95	0,18	182,38±6,0 5	181,81±8,54	0,95
HDL-K (mg/dL)	49,46±1,63	46,85±2,01	0,38	43,69±1,74	45,90±1,93	0,47
LDL-K (mg/dL)	127±5,60	144,10±9,34	0,12	126,33±5,7 5	128,05±8,49	0,87
Trigliserid (mg/dL)	121,66±6,70	176,10±21,15	0,22	169,29±13, 94	144,38±11,50	0,29
ALT (U/L)	20,59±1,45	27,15±2,51	0,24	30,64±3,76	27,33±4,98	0,63
AST (U/L)	20,07±1	22,40±1,4	0,22	27,05±2,56	20,24±1,58	0,027

Hasta ve kontrol grupları arasındaki önemlilik derecesi alleller arasında ise Student's t testi ile incelenmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak yer almaktadır HbA1c: Hemoglobin A1c, Total-K: Total kolesterol, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, ALT: Alanin transaminaz, AST: Aspartat transaminaz, p: Anlamlılık değeri.

PEPD geni rs1061338 3'UTR varyantında A>G genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE ve kontrol grubunda anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4-6: *PEPD* rs1061338 A>G Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi

<i>PEPD</i> rs1061338 A>G						
	Kontrol			KAE		
	AA	AG+GG	<i>p</i>	AA	AG+GG	<i>p</i>
Prolidaz (ng/ml)	428,10±27,80	370,25±50,01	0,33	307,24±10,16	263,51±18,49	0,27
Glukoz (mg/dL)	110,70±5,67	107,69±6,34	0,79	114,37±4,33	124,28±11,73	0,43
HbA1c (%)	6,04±0,12	5,88±0,10	0,53	6,35±0,11	6,30±0,22	0,83
Total-K (mg/dL)	189,60±6,18	181,50±12,12	0,55	184,18±5,47	178,24±10,20	0,57
HDL-K (mg/dL)	49,60±1,55	45,69±2,15	0,22	45,16±1,74	42,56±2,15	0,37
LDL-K (mg/dL)	133,48±5,45	124,06±10,74	0,43	126,16±5,18	128,12±9,99	0,84
Trigliserid (mg/dL)	126,40±6,46	171,94±27,21	0,12	169,35±14,41	148,24±13,48	0,35
ALT (U/L)	22,33±1,52	22,25±2,28	0,97	27,43±3,82	34,40±4,94	0,28
AST (U/L)	20,67±0,97	20,75±1,57	0,96	23,18±2,13	29,24±3,89	0,14

Hasta ve kontrol grupları arasındaki önemlilik derecesi alleller arasında ise Student's t testi ile incelenmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak yer almaktadır HbA1c: Hemogloblin A1c, Total-K: Total kolesterol, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, ALT: Alanin transaminaz, AST: Aspartat transaminaz, *p*: Anlamlılık değeri.

PEPD geni rs16968070 intronik varyantında T>C genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs1698070 C alleli taşıyanlar (TC+CC), TT genotipine sahip olanlara göre daha düşük serum prolidaz düzeyine ($p=0,05$) sahiptir. Kontrol grubunda ise, anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4-7: *PEPD* rs16968070 T>C Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Biyokimyasal ve Klinik Parametrelere Etkisi

<i>PEPD</i> rs16968070 T>C						
	Kontrol			KAE		
	TT	TC+CC	<i>p</i>	TT	TC+CC	<i>p</i>
Prolidaz (ng/ml)	421,04±25,78	377±76,26	0,56	301,19±9,67	255,53±26,08	0,05
Glukoz (mg/dL)	108,48±5,10	121,89±9,88	0,35	116,92±4,96	120,79±14,62	0,75
HbA1c (%)	5,98±0,11	6,16±0,16	0,58	6,36±0,11	6,19±0,26	0,51
Total-K (mg/dL)	188,57±5,61	182,89±21,14	0,80	183,66±5,32	175,86±13,16	0,54
HDL-K (mg/dL)	49,40±1,41	44,11±3,30	0,19	44,53±1,53	43,29±3,11	0,72
LDL-K (mg/dL)	132,64±5,07	123±16,48	0,52	127,05±5,04	125,71±13,29	0,91
Trigliserid (mg/dL)	128,58±6,46	191,11±43,46	0,19	165,69±12,42	147,86±18	0,52
ALT (U/L)	21,96±1,33	25±4,66	0,45	29,69±3,55	29,86±5,12	0,98
AST (U/L)	20,76±0,90	20,11±5,98	0,80	24,32±2,08	28,93±5,08	0,41

Hasta ve kontrol grupları arasındaki önemlilik derecesi alleller arasında ise Student's t testi ile incelenmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak yer almaktadır. HbA1c: Hemogloblin A1c, Total-K: Total kolesterol HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, ALT: Alanin transaminaz, AST: Aspartat transaminaz, p: Anlamlılık değeri.

KAE Hastalarında *PEPD* genotiplerinin serum prolidaz düzeylerine etkisi Tablo 4.8’te verilmiştir. KAE hasta grubunda rs17570 GA genotipi taşıyanda GG’lere göre ($p=0,05$) ve rs1061338 AG taşıyanlarda AA’lara göre ($p=0,037$) serum prolidaz düzeyi düşük gözlenmiştir. Kontrol grubunda 17569 GA genotipine sahip bireylerde GG’lere göre serum prolidaz düzeyi yüksek ($p=0,021$) iken, rs75449530 T>C genotiplerinin prolidaz düzeylerine anlamlı farklı etkileri gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4-8: KAE Hastalarında *PEPD* Genotiplerinin Serum Prolidaz Düzeylerine Etkisi

<i>PEPD</i> gen varyasyonları	Serum Prolidaz düzeyi	
	Gruplar	
	KAE	Kontrol
rs17570 G>A		
GG	306,00±10,01 (n=51)	425,71±29,78 (n=53)
AA	265,77±48,20 (n=4)	196,36±59,26 (n=2)
GA	264,04±21,63 (n=20)*	411,32±43,92 (n=20)
rs17569 G>A		
GG	**	381,85±26,09 (n=56)***
AA		521,20±204,69 (n=3)
GA		514,67±53,37 (n=16)
rs1061338 A>G		
AA	307,25±10,16 (n=50)	**
GG	265,77±48,20 (n=4)	
AG	263,08±20,54 (n=21)****	
rs75449530 T>C		
TT	**	399,84±28,74 (n=55)
CC		399,25±178,89 (n=2)
TC		466,24±48,11 (n=18)
rs16968070 T>C	**	**

Tablodaki değerler $X \pm \text{Standart Hata}$ olarak verilmiştir. Gruplararası karşılaştırma one-way ANOVA testi ile yapılmıştır.

*, GA’larda GG’lere göre serum prolidaz düzeyi düşüktür ($p=0.05$).

**, Homozigot nadir genotip sayısı yetersiz olduğu için ANOVA testi yapılamadı.

***, GA’larda GG’lere göre serum prolidaz düzeyi yüksektir ($p=0.05$).

****, AG’lerde AA’lara göre serum prolidaz düzeyi düşüktür ($p=0.037$).

Tablo 4.9’da *PEPD* geni yaygın polimorfizmleri genotiplerinin KAE grubunda hipertansiyon, diyabet ve hiperlipidemiyle olan ilişkisine bakıldığında; rs17570 “A” alleleline sahip hastalarda diyabet prevalansı “GG” genotipine göre daha düşük tespit edilmiştir ($p=0,006$ OR:0,197, CI:0,059-0,655). *PEPD* geni rs1061338’de ise nadir “G” alleleline sahip olanlarda diyabet prevalansı “AA” genotipine göre daha düşük tespit edilmiştir ($p=0,02$ OR:0,251, CI:0,075-0,837).

Tablo 4-9: *PEPD* Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin KAE Grubunda Hipertansiyon, Diyabet ve Hiperlipidemiyle olan ilişkisi

<i>PEPD</i> gen varyasyonları		HT(+)	HT(-)	DM(+)	DM(-)	HL(+)	HL(-)
<i>PEPD</i> rs17570 G>A	GG	(67,4) 29	(57,6) 19	(84,6) 22	(52) 26	(65,9) 29	(59,4) 19
	GA+AA	(32,6) 14	(42,4) 14	(15,4) 4	(48) 24	(34,1) 28	(40,6) 13
		$p>0,05$		$p^*=0,006$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs17569 G>A	GG	(76,7) 33	(81,8) 27	(69,2) 18	(84) 42	(72,7) 32	(87,5) 28
	GA+AA	(23,3) 10	(18,2) 6	(30,8) 8	(16) 8	(27,3) 12	(12,5) 4
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs75449530 T>C	TT	(69,8) 9	(75,8) 25	(69,2) 18	(74) 37	(68,2) 30	(78,1) 25
	TC+CC	(30,2) 18	(24,2) 8	(30,8) 8	(26) 13	(31,8) 14	(21,9) 7
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs1061338 A>G	AA	(74,4) 32	(57,6) 19	(84,6) 22	(58) 29	(72,7) 32	(59,4) 19
	AG+GG	(25,6) 11	(42,4) 14	(15,4) 4	(42) 21	(27,3) 12	(40,6) 13
		$p>0,05$		$p^{**}=0,02$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs16968070 T>C	TT	(81,4) 35	(81,8) 27	(92,3) 24	(76) 38	(84,1) 37	(78,1) 25
	TC+CC	(18,6) 8	(18,2) 6	(7,7) 2	(24) 12	(15,9) 7	(21,9) 7
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	

Gruplar arası karşılaştırma kıkare testi ile yapılmıştır. Tablodaki değerler yüzde (%) ve n olarak verilmiştir. p: Anlamlılık Değeri, OR: Göreceli Olasılıklar Oranı (Odds Ratio), CI: Güven Aralığı (Confidence Interval), HT (+): Hipertansiyona sahip olma, HT(-): Hipertansiyona sahip olmama, DM(+): Diyabete sahip olma, DM(-): Diyabete sahip olmama. $p^*=0,006$, OR:0,197, CI:0,059-0,655, $p^{**}=0,02$, OR:0,251, CI:0,075-0,837.

Tablo 4.10'da *PEPD* geni yaygın polimorfizmleri genotiplerinin kontrol grubunda hipertansiyon, diyabet ve hiperlipidemiyle olan ilişkisine bakıldığında; istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4-10: *PEPD* Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin Kontrol Grubunda Hipertansiyon, Diyabet ve Hiperlipidemiyle olan ilişkisi

<i>PEPD</i> gen varyasyonları		HT(+)	HT(-)	DM(+)	DM(-)	HL(+)	HL(-)
<i>PEPD</i> rs17570 G>A	GG	(35,2) 19	(64,8) 35	(22,2) 12	(77,8) 42	(31,5) 17	(68,5) 17
	GA+AA	(31,8) 7	(68,2) 15	(18,2) 4	(81,8) 18	(34,1) 28	(77,3) 17
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs17569 G>A	GG	(31,6) 18	(68,4) 39	(19,3) 11	(80,7) 46	(28,1) 16	(71,9) 41
	GA+AA	(42,1) 8	(57,9) 11	(26,3) 5	(73,7) 14	(27,3) 12	(68,4) 13
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs75449530 T>C	TT	(32,1) 18	(67,9) 38	(17,9) 10	(82,1) 46	(28,6) 16	(71,4) 40
	TC+CC	(40) 8	(60) 12	(30) 6	(70) 14	(30) 6	(70) 14
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs1061338 A>G	AA	(35) 21	(65) 39	(21,7) 13	(78,3) 47	(30) 18	(70) 42
	AG+GG	(31,2) 5	(68,8) 11	(18,8) 3	(81,2) 13	(25) 4	(75) 12
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs16968070 T>C	TT	(32,8) 22	(67,2) 45	(17,9) 12	(82,1) 55	(26,9) 18	(73,1) 49
	TC+CC	(44,4) 4	(55,6) 5	(44,4) 4	(55,6) 5	(44,4) 4	(55,6) 5
		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	

Gruplar arası karşılaştırma kıkare testi ile yapılmıştır. Tablodaki değerler yüzde (%) ve n olarak verilmiştir. p: Anlamlılık Değeri, OR: Göreceli Olasılıklar Oranı (Odds Ratio), CI: Güven Aralığı (Confidence Interval), HT (+): Hipertansiyona sahip olma, HT(-): Hipertansiyona sahip olmama, DM(+): Diyabete sahip olma, DM(-): Diyabete sahip olmama.

Tablo 4.11’de *PEPD* geni yaygın polimorfizmleri genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarında cinsiyetle olan ilişkisine bakıldığında; kontrol grubunda rs17570 mutant “A” allel frekansı erkeklerde kadınlara göre daha yüksek (%38,3 → %13,8, $p=0,036$, Fisher’s exact (FE) test) görülmüştür. Kontrol grubunda rs1061338 varyasyonunun cinsiyetler arası dağılımına bakıldığında, nadir “G” allel frekansı erkeklerde yüksektir (%31,9 → %3,4, $p=0,003$, Fisher’s exact (FE) test). KAE hasta grubunda rs17569 varyasyonunun cinsiyet dağılımına bakıldığında ise “A” alleli erkeklerde daha düşük bulunmuştur (14,8→36,4, $p=0,037$, OR:13,125, CI:1,629-105,777).

Tablo 4-11: *PEPD* Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Cinsiyetle olan İlişkisi

		KONTROL		KAE	
<i>PEPD</i> gen varyasyonları		Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
<i>PEPD</i> rs17570 G>A	GG	(86,2) 25	(61,7) 29	(77,3) 17	(57,4) 31
	GA+AA	(13,8) 4	(38,3) 18	(22,7) 5	(42,6) 23
		$p^{**}=0,036$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs17569 G>A	GG	(69) 20	(78,7) 37	(63,6) 14	(85,2) 46
	GA+AA	(31) 9	(21,3) 10	(36,4) 8	(14,8) 8
		$p>0,05$		$p^{*}=0,037$	
<i>PEPD</i> rs75449530 T>C	TT	(72,4) 21	(74,5) 35	(63,6) 14	(75,9) 41
	TC+CC	(27,6) 8	(625,5) 12	(36,4) 8	(24,1) 13
		$p>0,05$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs1061338 A>G	AA	(96,6) 28	(68,1) 32	(81,8) 18	(61,1) 33
	AG+GG	(3,4) 1	(31,9) 15	(18,2) 4	(38,9) 21
		$p^{***}=0,003$		$p>0,05$	
<i>PEPD</i> rs16968070 T>C	TT	(96,6) 28	(83) 39	(90,9) 20	(9,1) 2
	TC+CC	(3,4) 1	(17) 8	(77,8) 42	(22,2) 12
		$p>0,05$		$p>0,05$	

Tablodaki değerler yüzde (%) ve n olarak verilmiştir. $p^{*}=0,03$, OR:0,304, CI:0,097-0,0959. $p^{**}=0,03$, Fischer’s Exact Test., $p^{***}=0,003$, Fischer’s Exact Test.

Tablo 4.12’de *PEPD* geni yaygın polimorfizmleri genotiplerinin hasta grubunda tekli/çoklu arter etkilenmesi ile olan ilişkisine bakıldığında; istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

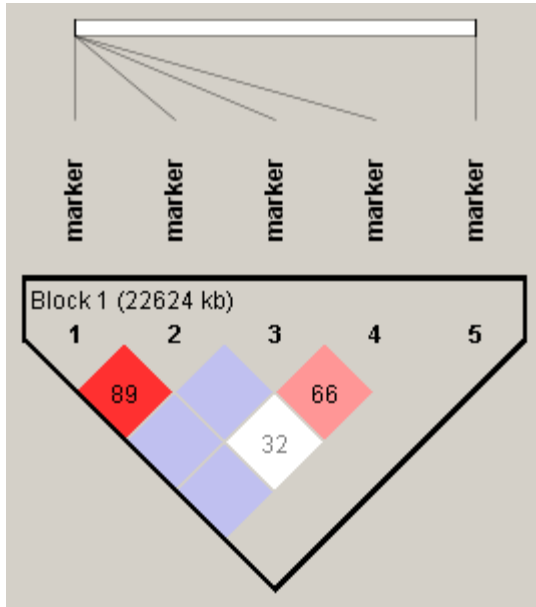
Tablo 4-12: *PEPD* Geni Yaygın Polimorfizmleri Genotiplerinin Hasta Grubunda Tekli / Çoklu Arter Etkilenmesi ile olan İlişkisi

KAE Grubu		Tekli Arter Etkilenmesi	Çoklu Arter Etkilenmesi
<i>PEPD rs17570 G>A</i>	GG	(62,2) 28	(64,5) 20
	GA+AA	(37,8) 17	(35,5) 11
	$p>0,05$		
<i>PEPD rs17569 G>A</i>	GG	(80) 36	(77,4) 24
	GA+AA	(20) 9	(22,6) 7
	$p>0,05$		
<i>PEPD rs75449530 T>C</i>	TT	(73,3) 33	(71) 22
	TC+CC	(26,7) 12	(29) 9
	$p>0,05$		
<i>PEPD rs1061338 A>G</i>	AA	(66,7) 30	(67,7) 21
	AG+GG	(33,3) 15	(32,3) 10
	$p>0,05$		
<i>PEPD rs16968070 T>C</i>	TT	(82,2) 37	(80,6) 25
	TC+CC	(17,8) 8	(19,4) 6
	$p>0,05$		

Gruplar arası karşılaştırma kıkare testi ile yapılmıştır. Tablodaki değerler yüzde (%) ve n olarak verilmiştir.

Haplotip Analizi

Tez çalışmamızda haplotip analizi ile hasta ve kontrol gruplarında yaygın rastlanan *PEPD* varyasyonları (rs17570, rs17569, rs75449530, rs1061338 ve rs16968070 arasındaki bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) varlığı incelenmiştir. Bağlantı dengesizliği şeması Şekil 4.3’de yer almaktadır. Polimorfizmlerden, rs1061338 ve rs17570 arasında ($D'=0,892$; $LOD=26,55$; $r^2=0,687$); rs17569 ve rs75449530 arasında ($D'=0,663$; $LOD=12,97$; $r^2=0,393$), rs17570 ve rs75449530 arasında da ($D'=0,32$; $LOD=0,1$; $r^2=0,004$) bağlantı dengesizliği ortaya koyulmuştur.



Şekil 4-3: Bağlantı dengesizliği şeması

Haplotip analizinde yer alan polimorfizmlerin contig pozisyonları ve marker numaraları Tablo 4.13’de yer almaktadır.

Tablo 4-13: Haplotip Analizinde Yer Alan Yaygın Varyasyonlar

Marker	Polimorfizm	Allel Değişimi	Contig Pozisyonu	MAF değeri
Marker 1	rs1061338	A>G	6146418	0,26
Marker 2	rs17570	G>A	6147057	0,28
Marker 3	rs17569	G>A	6150442	0,10
Marker 4	rs75449530	T>C	6222051	0,12
Marker 5	rs16968070	T>C	28770669	0,21

Tablo 4.14’de *PEPD* geninde incelenen yaygın polimorfizmlerin tekli ve kombine haplotip analizi yer almaktadır. Haploview programıyla yapılan analizde “**tek allel**” incelemesinde incelenen markerlardan sadece **M1** (rs1061338 A>G) polimorfizmi G allelinin istatistiksel anlamlılığa yakın KAE için riski ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (**p=0,054**); “**İki allel haplotip analizinde**; **M1** (rs1061338 A>G) ve **M3** (rs17569 G>A) polimorfizmleri- GG haplotipinin (**p=0,054**); **M1** (rs1061338 A>G) ve **M4** (rs75449530 T>C) polimorfizmleri- GT haplotipinin (**p=0,054**); **M1** (rs1061338 A>G) ve **M2** (rs17570 G>A) polimorfizmleri- GG haplotipinin (**p=0,047**) KAE riski ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. “**Üç Allel haplotip analizinde**” ise: **M1** (rs1061338 A>G) ve **M2** (rs17570 G>A) ve **M3** (rs17569 G>A) polimorfizmleri- GGG haplotipinin (**p=0,047**); **M1**(rs1061338 A>G) ve **M2** (rs17570 G>A) ve **M4** (rs75449530 T>C) polimorfizmleri- GGT (**p=0,047**); **M1** (rs1061338 A>G) ve **M3** (rs17569 G>A) ve **M4** (rs75449530 T>C) polimorfizmleri- GGT haplotipinin (**p=0,059**) KAE riski ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Haplotip analizleri KAE riski açısından özellikle M1 (rs1061338 A>G) nadir G alleli ve M2 (17570 G>A) normal G allelini birlikte taşımının KAE risk artışıyla yakın ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4-14: *PEPD* Geninde İncelenen Yaygın Varyasyonların Blok Haplotip Analizi

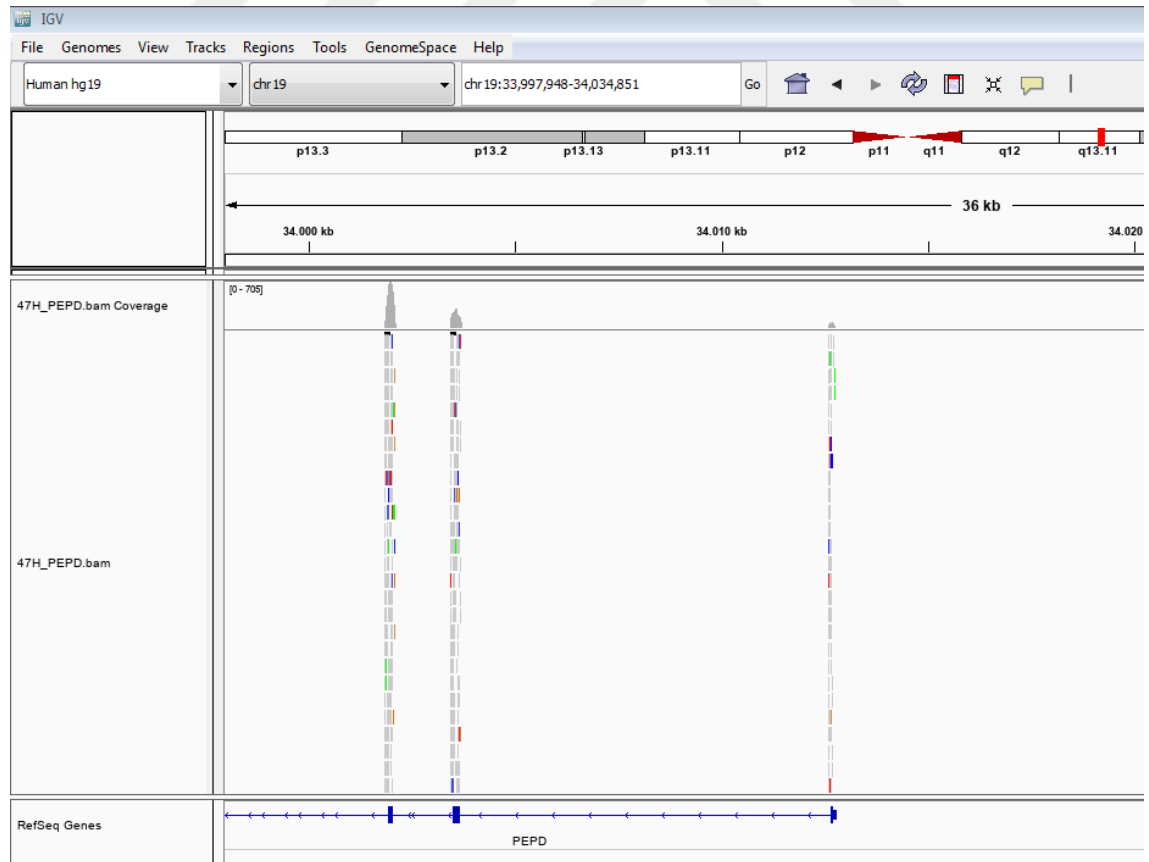
Marker	Haplotip	Toplam Frekans	KAE	Kontrol	Ki kare	p değeri
M1	G		0,191	0,112	3,689	0,054
M2	A		0,184	0,158	0,371	0,542
M3	G		0,882	0,855	0,461	0,497
M4	.		0,145	0,145	0	1
M5	C		0,092	0,059	1,176	0,278
M1+M3	AG	0,717	0,691	0,743	0,038	0,308
M1+M3	GG	0,151	0,191	0,112	3,689	0,054
M1+M3	AA	0,132	0,118	0,212	0,461	0,497
M1+M4	AT	0,705	0,666	0,744	2,264	0,132
M1+M4	GT	0,150	0,190	0,111	3,688	0,054
M1+M4	AC	0,144	0,144	0,144	0	0,995
M3+M4	GT	0,817	0,827	0,808	0,192	0,661
M3+M4	AC	0,094	0,090	0,097	0,043	0,836
M3+M4	GC	0,051	0,055	0,048	0,075	0,784
M3+M4	AT	0,038	0,028	0,048	0,784	0,376
M1+M2	AG	0,815	0,789	0,842	1,401	0,236
M1+M2	GA	0,138	0,164	0,111	1,746	0,183
M1+M2	AA	0,033	0,020	0,046	1,628	0,202
M1+M2	GG	0,014	0,027	0,000	3,945	0,047
M2+M4	GT	0,701	0,686	0,716	0,336	0,562
M2+M4	AT	0,154	0,169	0,139	0,54	0,426
M2+M4	GC	0,128	0,130	0,126	0,012	0,914
M2+M4	AC	0,017	0,015	0,019	0,078	0,780

M1+M2+M3	AGG	0,684	0,671	0,697	0,245	0,620
M1+M2+M3	GAG	0,138	0,164	0,111	0,769	0,183
M1+M2+M3	AGA	0,132	0,118	0,145	0,461	0,497
M1+M2+M3	AAG	0,033	0,020	0,046	1,625	0,202
M1+M2+M3	GGG	0,014	0,027	0,000	3,942	0,047
M2+M3+M4	GGT	0,664	0,662	0,666	0,007	0,935
M2+M3+M4	AGT	0,153	0,165	0,141	0,338	0,561
M2+M3+M4	GAC	0,094	0,090	0,097	0,04	0,841
M2+M3+M4	GAT	0,038	0,028	0,048	0,801	0,370
M2+M3+M4	GGC	0,033	0,036	0,031	0,045	0,832
M2+M3+M4	AGC	0,018	0,019	0,017	0,023	0,879
M1+M2+M4	AGT	0,681	0,652	0,711	1,196	0,274
M1+M2+M4	GAT	0,134	0,160	0,108	1,754	0,185
M1+M2+M4	AGC	0,134	0,137	0,131	0,022	0,882
M1+M2+M4	AAT	0,026	0,016	0,036	1,165	0,280
M1+M2+M4	GGT	0,014	0,027	0,000	3,942	0,047
M1+M4+M5	ATT	0,703	0,665	0,741	2,074	0,149
M1+M4+M5	ACT	0,138	0,137	0,140	0,008	0,928
M1+M4+M5	GTT	0,083	0,106	0,060	2,126	0,144
M1+M4+M5	GTC	0,065	0,082	0,048	1,463	0,226
M1+M3+M5	AGT	0,710	0,683	0,736	1,038	0,308
M1+M3+M5	AAT	0,132	0,118	0,145	0,461	0,497
M1+M3+M5	GGT	0,083	0,106	0,060	2,157	0,141
M1+M3+M5	GGC	0,068	0,085	0,052	1,259	0,261
M2+M3+M5	GGT	0,694	0,690	0,697	0,016	0,898
M2+M3+M5	GAT	0,132	0,118	0,145	0,461	0,497
M2+M3+M5	AGT	0,099	0,099	0,099	0,0	0,995
M2+M3+M5	AGC	0,072	0,085	0,059	0,777	0,378
M2+M4+M5	GTT	0,698	0,679	0,716	0,499	0,480
M2+M4+M5	GCT	0,127	0,130	0,125	0,012	0,912
M2+M4+M5	ATT	0,090	0,092	0,088	0,017	0,895
M2+M4+M5	ATC	0,064	0,077	0,051	0,873	0,350
M3+M4+M5	GTT	0,752	0,750	0,754	0,007	0,935
M3+M4+M5	ACT	0,094	0,090	0,097	0,036	0,848
M3+M4+M5	GTC	0,066	0,078	0,054	0,712	0,398
M3+M4+M5	GCT	0,041	0,040	0,042	0,013	0,910
M3+M4+M5	ATT	0,038	0,028	0,048	0,827	0,363
M3+M4+M5	GCC	0,010	0,015	0,006	0,607	0,435
M1+M3+M4	AGT	0,674	0,646	0,702	1,104	0,293
M1+M3+M4	GGT	0,143	0,181	0,105	3,565	0,059
M1+M3+M4	AAC	0,094	0,090	0,097	0,043	0,836
M1+M3+M4	AGC	0,043	0,045	0,041	0,028	0,867
M1+M3+M4	AAT	0,038	0,028	0,048	0,783	0,376
M1+M2+M5	AGT	0,815	0,789	0,842	1,401	0,236
M1+M2+M5	GAT	0,072	0,085	0,059	0,786	0,375
M1+M2+M5	GAC	0,066	0,079	0,052	0,856	0,354
M1+M2+M5	AAT	0,027	0,013	0,040	2,027	0,154
M1+M2+M5	GGT	0,010	0,020	0,000	2,951	0,085
M1+M2+M3+M4	AGGT	0,652	0,639	0,665	0,212	0,645
M1+M2+M3+M4	GAGT	0,128	0,152	0,103	1,615	0,203
M1+M2+M3+M4	AGAC	0,094	0,090	0,097	0,037	0,847
M1+M2+M3+M4	AGAT	0,035	0,023	0,048	1,433	0,231

M1+M2+M3+M4	AGGC	0,035	0,037	0,032	0,04	0,841
M1+M2+M3+M4	AAGT	0,027	0,015	0,039	1,749	0,185
M1+M2+M3+M4	GGGT	0,011	0,021	0,000	3,121	0,077
M1+M2+M3+M4	GAGC	0,010	0,012	0,008	0,116	0,732
M1+M2+M3+M4+M5	AGGTT	0,654	0,641	0,667	0,224	0,636
M1+M2+M3+M4+M5	AGACT	0,092	0,091	0,093	0,006	0,940
M1+M2+M3+M4+M5	GAGTT	0,069	0,082	0,056	0,805	0,369
M1+M2+M3+M4+M5	GAGTC	0,058	0,070	0,047	0,686	0,407
M1+M2+M3+M4+M5	AGGCT	0,035	0,036	0,034	0,004	0,950
M1+M2+M3+M4+M5	AGATT	0,035	0,022	0,048	1,492	0,221
M1+M2+M3+M4+M5	AAGTT	0,022	0,013	0,030	1,031	0,31

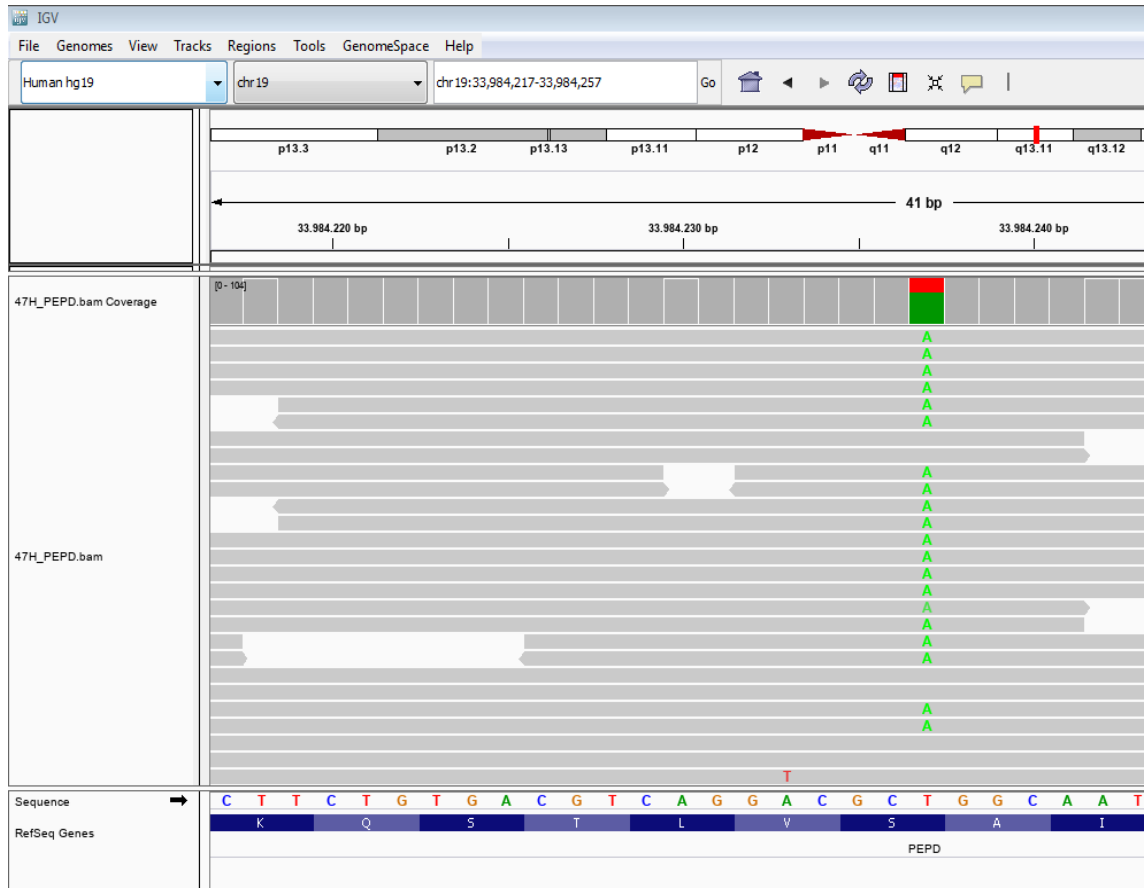
PEPD Geni Dizi Analizi

PEPD geni dizisi analizi, MiSeq yeni nesil dizileme platformu (Illumina, San Diego, CA) kullanılarak yapıldı. *PEPD* geni 15 ekzonu, ekzonların 3' UTR ve 5'UTR bölgeleri, bölgelere özel primerler kullanılarak çoğaltıldı. Dizilenen bölgeler MiSeq yazılımı olan IGV 2.7.2 kullanılarak h19 genomu seçilerek analiz edildi.



Şekil 4-4: IGV 2.7.2 programında *PEPD* geni ilk 3 ekzon görünümü

Şekil 4.4’de IVG 2.7.2. programı kullanılarak analiz edilen H47 kodlu örneğin ilk 3 ekzonu gösterilmiştir. Resimde görüldüğü üzere alt kısımda bulunan referans dizide sol tarafa doğru oklar biçiminde gösterilmiştir. Okun yönü okunan ipliği göstermektedir.(https://software.broadinstitute.org/software/igv/sequence_track_options). Toplamda 15 ekzonu bulunan *PEPD* geninin ekzonları program içinde analiz edilerek genetik değişimler tespit edilmektedir.



Şekil 4-5: IVG 2.7.2 programında H47 kodlu hastanın yanlış anlamlı heterozigotik nokta değişimi görünümü

Şekil 4.5’de H47 kodlu hastanın yanlış anlamlı heterozigotik nokta değişimi, IVG 2.7.2. analiz programında görülmektedir. Tüm varyantlarda olduğu gibi H47 kodlu hasta örneğinde de NM_000285.4 referans dizisi erişim numarası mevcuttur. c.400A>T baz değişimi %69’u A nükleotidi, %34’ü T nükleotidi oranında ve (p.Ser134Cys) aminoasit değişimi görülmektedir. A nükleotidi c400 pozisyonunda T nükleotidine dönüşmüştür.

PEPD Geninde Nadir ve Yaygın Tespit Edilen Genetik Değişimler

Çalışmamızda *PEPD* geninde yaygın görülen polimorfizmler ve nadir görülen mutasyonlar tespit edilmiştir. Bu gen değişimlerinin çalışma gruplarındaki kromozomal lokasyonları, protein yapı ve fonksiyonuna olan risk etkileri Tablo 4.15 ve Tablo 4.16’da gösterilmiştir. Bu değişimlerin Ensembl transcript ID: ENST00000244137’dir. Dizileme çalışmalarında standart olarak, gendeki tüm ekzonları kapsayabilmek için primerler, ekzonların başlangıç ve bitiş kısımlarından sonra 30-50 bazlık kadar intronik kısma denk gelecek şekilde tasarlanır. Bu sebeple, *PEPD* geni 15 ekzonunun analizine ek olarak ekzonların başlangıç ve bitiş bölgelerinde yer alan intronik noktaların, 3’UTR ve 5’UTR bölgelerindeki değişimler de bu tablolarda yer almaktadır. Tablo 4.17’de ise *PEPD* geninde nadir gözlenen mutasyonların bulunduğu hastaların biyokimyasal ve klinik bilgileri gösterilmiştir.

Hasta grubunda rastlanan nadir ve yaygın görülen değişimlerin varlığına göre hastaların biyokimyasal ve klinik verileri incelendiğinde;

H1 kodlu 62 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878977’de lokalize olan **rs2230062** mutasyonu (C>T) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,02’dir. Bu değişimde zararlı olarak tanımlanan (www.ensembl.org) R388H yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **yüksek** olarak tanımlanmıştır. H1 kodlu hasta ayrıca Chr19:33953912’de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,03’tür. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, fenotipte aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:3387883’de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu ise heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28’dir. Klinik olarak bu hastanın hipertansiyon ve hiperlipidemi geçmişi olan hastanın nötrofil değeri $9,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ olarak gözlenip, normalden yüksektir. Hastanın prolidaz düzeyi ise KAE hasta grubunun ortalamasından (292,66 ng/ml) daha düşük (264,67 ng/ml) bulunmuştur.

H2 kodlu 51 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912'de yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,03'tür. Y220Y olarak **sessiz** mutasyon olarak yer alır ve proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:33902652'de lokalize olan rs74988985 mutasyonu (A>G) heterozigot olarak yer alır. MAF değeri 0,01'dir. Bu mutasyon (G248G) aminoasit değişimine sebep olmayıp sessiz bir değişim olarak tanımlanmaktadır ve proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:34003712'de lokalize olan **rs45564539** intronik değişimini (C>T) ise heterozigot olarak taşır. Bu intronik noktanın MAF değeri 0,02'dir. Bu hastanın LMCA ve LAD koroner arterlerinde ektazi bulunmakta olup, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabet geçmişi bulunan hastanın prolidaz düzeyi (378,84 ng/ml) ise KAE hasta grubunun ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubu ortalamasına göre (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H3 kodlu 78 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33892708'de yer alan rs370970279 mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir. Bu değişimde zararlı olarak tanımlanan (www.ensembl.org) G296S yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **yüksek** olarak tanımlanmıştır. Bu mutasyon sadece hasta grubu içerisinde ve sadece H3 kodlu hastada görülmüş olup, minör allel frekansı, <0,01'dir. Hasta ayrıca Chr19:33882222'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17569** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (H377H) aminoasit değişimine sebep olmayıp, sessiz varyasyon olarak görülmektedir. MAF değeri 0,1'dir. Hastada Chr19:33953831'de lokalize olan ve yaygın görülen **rs75449530** intronik değişimi (T>C) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,12'dir. Hastanın koroner arterlerinde CX ve RCA etkilenmesi, hipertansiyon ve hiperlipidemi mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (355,21 ng/ml) ise KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubuna (415,76 ng/ml) göre düşük olarak gözlenmiştir.

H5 kodlu 52 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666'da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,03'tür. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu ise heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastanın koroner arterlerinde LAD ve

RCA etkilenmesi, hipertansiyon ve hiperlipidemi mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (296,31 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasına (292,66 ng/ml) yakın fakat, kontrol grubuna (415,76 ng/ml) göre oldukça düşük olarak gözlenmiştir.

H6 kodlu 48 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666'da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,03'tür. Hastanın koroner arterlerinde RCA etkilenmesi ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (92,12 ng/ml) ise KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu (415,76 ng/ml) ortalamasından oldukça düşük olarak gözlenmiştir.

H9 kodlu 56 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878977'de lokalize olan **rs2230062** mutasyonu (C>T) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,02'dir. Bu değişimde **zararlı** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) R388H yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **yüksek** olarak tanımlanmıştır. Hastada ayrıca Chr19:33953912'de lokalize yer alan rs3745969 mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, proteinde aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Koroner arterlerinde CX etkilenmesi, hipertansiyon ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (324,81 ng/ml) ise KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek iken kontrol grubu ortalamasına (415,76 ng/ml) göre düşük olarak gözlenmiştir.

H21 kodlu 63 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr:1933904449'da lokalize olan **rs146629261** intronik değişimi (C>A) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen rs17570 varyasyonu homozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hasta ayrıca Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişiminde ise (A>G) homozigot olarak bulunur (MAF:0,26). Klinik olarak bu hastanın hipertansiyon ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek (314,47 ng/ml) fakat kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olduğu gözlenmiştir.

H26 kodlu 63 yaşındaki **kadın** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666'da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir (MAF: 0,03). Chr19:33882222'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17569** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (H377H) aminoasit değişimine sebep olmayıp, sessiz varyasyon olarak görülmektedir. MAF değeri 0,1'dir. Hastada ayrıca Chr19:33953831'de lokalize olan ve yaygın görülen **rs75449530** intronik varyant değişimi (T>C) heterozigot olarak görülmektedir (MAF:0,12). Koroner arterlerinde LAD, CX, RCA etkilenmesi, hiperlipidemi ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (328,18 ng/ml) KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek iken kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H32 kodlu 68 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904571'de yer alan ve çalışma grubunda sadece bu hastada görülen **rs760238665** intronik varyantı (A>G) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri <0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu homozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastada ayrıca Chr19:33878198'de yer alan rs1061338 yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) homozigot olarak (MAF değeri 0,26) ve Chr19:33882458'de lokalize yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** varyasyonu ise heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Nötrofil ($7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) değeri yüksek ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (137,11 ng/ml) ise KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubundan (415,76 ng/ml) oldukça düşük olarak gözlenmiştir.

H36 kodlu 61 yaşındaki **kadın** hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912'de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (Y220Y) **sessiz** bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:33902652'de lokalize olan **rs74988985** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak yer alır. Bu değişim (G248G) sessiz bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Hastanın koroner arterlerinde CX etkilenmesi, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (335,05 ng/ml) hasta grubu ortalamasından

yüksek (292,66 ng/ml) iken kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H38 kodlu 47 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33902600'de lokalize olan ve çalışma grubunda sadece tek görülen **rs773722161** mutasyonu (T>C) heterozigot görülür. MAF değeri, <0,01'dir. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) (T266A) yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) nötral olarak tanımlanmıştır. Hastanın koroner arterlerinde LMCA, LAD etkilenmesi ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (327,67 ng/ml) hasta grubu ortalamasından yüksek iken (292,66 ng/ml) kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) oldukça düşük olarak gözlenmiştir.

H44 kodlu 66 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33902652'de lokalize olan **rs74988985** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak yer alır. MAF değeri 0,01'dir. Bu değişim (G248G) **sessiz** bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Bu hastada ayrıca chr19:34012748 5'UTR'de lokalize yeni tanımlanan bir mutasyon görülmektedir. Hastanın koroner arterlerinde RCA tutulumu olup prolidaz düzeyi (249,05 ng/ml) KAE hasta (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H47 kodlu 52 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912'de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,03'tür. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Bu hastada ayrıca **chr19:3398423'de** lokalize olan yanlış anlamlı mutasyon (S134C) mevcut olup protein üzerinde nötral etkilidir ve proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) yer alır. Hastada Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu ise heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastada Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) de heterozigot olarak (MAF değeri 0,26) ve Chr19:33882458'de lokalize yer alan yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot olarak bulunmaktadır (MAF değeri 0,21). Koroner arterlerinde RCA tutulumu, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti olan

hastanın prolidaz düzeyi (251,69 ng/ml) KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu (415,76 ng/ml) ortalamasından düşük olarak gözlenmiştir.

H48 kodlu 79 yaşındaki **kadın** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666'da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak (MAF değeri 0,03) ve Chr19:33882222'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17569** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (H377H) aminoasit değişimine sebep olmayıp, sessiz varyasyon olarak görülmektedir. MAF değeri 0,1'dir. Hastanın koroner arterlerinde LMCA, LAD tutulumu, hipertansiyon ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (352,43 ng/ml) KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H54 kodlu 55 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912'de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,03'tür. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Hastanın koroner arterlerinde LMCA tutulumu ve hipertansiyonu olan hastanın prolidaz düzeyi (191,02 ng/ml) hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H57 kodlu 63 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Chr19:33882458'de lokalize yer alan yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Hastanın koroner arterlerinde LAD etkilenmesi mevcut olan hastadanın hipertansiyon ve hiperlipidemisi vardır. Hastanın prolidaz düzeyi (347,83 ng/ml) KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek olup ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H59 kodlu 46 yaşındaki **kadın** hastada, *PEPD* geninde chr19:34003712'de lokalize olan **rs45564539** intronik değişimi (C>T) heterozigot olarak yer alır. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon (MAF değeri 0,28) ve Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur (MAF değeri 0,26). Chr19:33882458'de lokalize yaygın olarak görülen intronik rs16968070 heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Bu hastanın LAD ve RCA olan koroner arterlerinde ektazi tutulumu, hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (378,84 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubuna göre (415,76 ng/ml) oldukça düşük olarak gözlenmiştir.

H60 kodlu 46 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Hastada ayrıca Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastada Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Chr19:33882458'de lokalize yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Bu hastanın RCA olan koroner arterinde ektazi bulunmaktadır ve prolidaz düzeyi (360,91 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubuna göre (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H63 kodlu 80 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Hasta ayrıca Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hasta Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) de

heterozigot olarak (MAF değeri 0,26) ve Chr19:33882458'de lokalize olan yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot mutant olarak bulunmaktadır (MAF değeri 0,21). RCA olan koroner arterinde ektazi olan ve lenfosit ($4,9 \times 10^3/\mu\text{L}$) ile monosit ($1,2 \times 10^3/\mu\text{L}$) düzeyleri yüksek olan hastanın prolidaz düzeyi (207,77 ng/ml) ise hasta (292,66 ng/ml) grubu ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H66 kodlu 64 yaşındaki **erkek** hastanın, *PEPD* geninde chr19:33878846'da lokalize yer alan **rs149042427** mutasyonu (C>T) heterozigot olarak bulunur. Bu değişimde zararlı olarak tanımlanan (www.ensembl.org) A432T yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **orta** olarak tanımlanmıştır. Chr19:33902667'de lokalize olan intronik **rs375510790** çalışma grubunda sadece bu hasta görülmekte olup MAF değeri <0,01'dir. Hasta ayrıca Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Koroner arterlerinde LAD tutulumu olan hastanın prolidaz düzeyi (260,82 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından göre (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H71 kodlu 77 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Chr19:33882458'de lokalize yer alan yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Bu hastanın RCA olan koroner arterinde ektazi, yüksek WBC($11 \times 10^3/\mu\text{L}$), nötrofil ($7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) ve monosit ($1,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) değerleri olan hastanın hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (288,19 ng/ml) olarak

KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

H74 kodlu 65 yaşındaki **erkek** hastada, PEPD geninde chr19:33882259'da lokalize olan **rs200183031** mutasyonu (G>A) mutasyonu çalışma grubunda **sadece bu hastada** heterozigot olarak bulunur. Bu değişimde **zararlı** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) P365L yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **orta** olarak tanımlanmıştır ve N-terminal bölgesinde yer alır. MAF değeri <0,01'dir. CX koroner arterinde ektazi bulunan, WBC($10,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) ve nötrofil($7,2 \times 10^3/\mu\text{L}$) değerleri yüksek olan hastanın hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (380,57 ng/ml) olarak hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek iken ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir.

Tablo 4-15: Hasta Grubunda PEPD Geni Mutasyonları

	Hasta Kodu	Statü	Lokasyon	c.DNA	Mutasyon tipi	a.a değişimi	Protein bölge	Fonksiyona etkisi	SIFT skoru	SIFT pred	Polyphen 2 skoru	Polyphen2 pred	dbSNP	Minör allel frekansı
1	H1, H5, H10, H21, H25, H28, H29, H30,H31,H32, H34, H37, H47, H50, H56, H57, H59, H60, H61, H63, H64, H65, H66, H67, H68, H70,H71, H73	Bilinen	Chr19: 33878837 G>A	c.1303 C>T	Yanlış anlamlı	p.L435F	N-terminal bölgesi	Düşük	0,79	T	0,019	B	rs17570	0,28
2	H1, H9	Bilinen	Chr19: 33878977 C>T	c.1163 G>A	Yanlış anlamlı	p.R388H	N-terminal bölgesi	Yüksek	0	D	0,997	D	rs2230062	0,02
3	H1, H2, H9, H36, H47, H54	Bilinen	Chr19: 33953912 A>G	c.660 T>C	Sessiz	p.Y220Y	N-terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs3745969	0,03
4	H2, H36, H44	Bilinen	chr19: 33902652 A>G	c.744 T>C	Sessiz	p.G248G	N-terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs74988985	0,01
5	H2, H59	Bilinen	Chr19: 34003712 C>T	c.18-30 G>A	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs45564539	0,02
6	H3, H14, H15, H17, H26,H28, H33, H35, H39,H45, H48, H51, H52, H55,H64, H73	Bilinen	Chr19: 33882222 G>A	c.1131 C>T	Sessiz	p.H377H	N-terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs17569	0,10
7	H3	Bilinen	Chr19: 33892708	c.886 G>A	Yanlış anlamlı	p.G296S	N-terminal	Yüksek	0	D	0,998	D	rs370970279**	< 0.01

			34012748											
16	H47	Yeni	Chr19: 33984237	c.400 A>T	Yanlış anlamli	p.S134C	N- terminal bölgesi	Orta	D	-	-	P	-	-
17	H66	Bilinen	Chr19: 33878846 C>T	c.1294 G>A	Yanlış anlamli	p.A432 T	N- terminal bölgesi	Orta	0,04	D	0,199	B	rs149042427	<0.01
18	H66	Bilinen	Chr19: 33902667 C>T	c.741- 12G>A	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs375510790**	<0.01
19	H74	Bilinen	Chr19: 33882259 G>A	c.1094 C>T	Yanlış anlamli	p.P365L	N- terminal bölgesi	Orta	0	D	0,999	P	rs200183031**	<0.01

H: Koroner arter ektazi hastası, SIFT (sorting intolerant from tolerant), Polyphen (polymorphism phenotyping), T: Tolere edilebilir, D: Zararlı, B: Benign, SIFT değerleri: <0,05 Zararlı; ≥0,05 Tolere edilebilir; Polyphen değerleri: >0,908 yüksek olasılıkla zararlı (probably damaging); >0,446 ≤0,908 zararlı olabilir (possibly damaging); ≤0,446 benign, ** Sadece hasta grubunda görülen nokta değişimi.

Tablo 4-16: Kontrol Grubunda *PEPD* Geni Mutasyonları

	Kontrol kodu	Statü	Lokasyon	c.DNA	Mutasyon tipi	a.a değişimi	Protein bölge	Fonksiyona etkisi	SIFT skoru	SIFT pred	Polyphen 2 skoru	Polyphen 2 pred	dbSNP	Minör allel frekansı
1	K1,K11,K12,K15,K20,K21,K24,K25,K27,K30,K44,K51,K66,K67,K71,K75	Bilinen	Chr19: 33878198 A>G	c.*52T>C	3' UTR	-	-	-	-	-	-	-	rs1061338	0,26
2	K1,K11,K12,K13,K15,K18,K20,K21,K24,K25,K27,K30,K31,K44,K48,K51,K52,K66,K67,K68,K71,K75	Bilinen	Chr19: 33878837 G>A	c.1303C>T	Yanlış anlamlı	p.L435F	N-terminal bölgesi	Düşük	0,79	T	0,019	B	rs17570	0,28
3	K1,K2,K3,K5,K10,K13,K16,K17,K24,K28,K29,K32,K39,K54,K57,K58,K68,K69	Bilinen	Chr19: 33882222 G>A	c.1131C>T	Sessiz	p.H377H	N-terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs17569	0,10
4	K1,K12,K15,K24,K25,K27,K44,K52,K74,K75	Bilinen	Chr19: 33882458 T>C	c.968-73 A>G	İntronik	.	-	-	-	-	-	-	rs16968070	0,21
5	K1,K5,K10,K13,K16,K24,K28,K29,K32,K34,K44,K47,K54,K55,K57,K59,K68,K71,K72,K74	Bilinen	Chr19: 33953831 T>C	c.671+70 A>G	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs75449530	0,12
6	K1	yeni	Chr19:33954829		İntronik								-	
7	K6	Bilinen	Chr19: 33878846	c.1294	Yanlış anlamlı	p.A432T	N-terminal	Orta	0,04	D	0,199	B	rs149042427	<0.01

			C>T	G>A			bölgesi							
8	K6	Bilinen	Chr19: 33882368 T>C	c.985 A>G	Yanlış anlamalı	p.M329 V	N- terminal bölgesi	Düşük	0	D	0,626	P	rs563348250*	<0.01
9	K7	Bilinen	Chr19: 34003712 C>T	c.18- 30G>A	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs45564539	0,02
10	K14,K37	Bilinen	Chr19: 33878666 C>T	c.1344+13 0 G>A	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs77163581	0,03
11	K18	Bilinen	Chr19: 33878977 C>T	c.1163G> A	Yanlış anlamalı	p.R388 H	N- terminal bölgesi	Yüksek	0	D	0,997	D	rs2230062	0,02
12	K18,K28,K59	Bilinen	Chr19: 33953912 A>G	c.660T>C	Sessiz	p.Y220 Y	N- terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs3745969	0,03
13	K24,K27,K44	Bilinen	Chr19: 33904449 C>A	c.740+32 G>T	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs146629261	0,01
14	K33,K35,K36	Bilinen	Chr19: 33878197 G>A	c.*53C>T	3'UTR	-	-	-	-	-	-	-	rs77690463**	0,02
15	K40	yeni	Chr19: 34002055		Yanlış anlamalı	p.F70L		Orta		D		P	-	

16	K40	yeni	Chr19: 34002060		Yanlış anlamli	p.E68G		Yüksek		D		D	-	
17	K43,K46	Bilinen	Chr19: 34003712 C>T	c.18-30 G>A	İntronik	-	-	-	-	-	-	-	rs45564539	0,02
18	K46	Bilinen	Chr19: 33902652 A>G	c.744T>C	Sessiz	p.G248 G	N- terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs74988985	0,01
19	K47	Bilinen	Chr19: 33882255 G>A	c.1098C> T	Sessiz	p.H366 H	N- terminal bölgesi	-	-		-		rs149579451*	<0,01
20	K61	Bilinen	Chr19: 33984235 G>A	c.402C>T	Sessiz	p.S134S	N- terminal bölgesi	-	-	-	-	-	rs373639982*	<0,01
21	K69	Bilinen	Chr19: 33991906 T>C	c.331A>G	Yanlış anlamli	p.I111V	N- terminal bölgesi	Orta	0,07	T	0,024	B	rs755350900*	<0,01

K: Kontrol, SIFT (sorting intolerant from tolerant), Polyphen (polymorphism phenotyping), T: Tolere edilebilir, D: Zararlı, B: Benign, SIFT değerleri: <0,05 Zararlı; ≥0,05 Tolere edilebilir; Polyphen değerleri: >0,908 yüksek olasılıkla zararlı (probably damaging); >0,446 ≤0,908 zararlı olabilir (possibly damaging); ≤0,446 benign.

**Sadece kontrol grubunda görülen nokta değişimi

Tablo 4-17: *PEPD* Geninde Nadir Gözlenen Mutasyonların Biyokimyasal ve Klinik Etkileri

Genotip	Mutasyon	Hasta kodu	Hasta genotipi	Prolidaz düzeyi	Cinsiyet	Yaş	Arter Tutulumu	Sorumlu arter	Glukoz	HbA1c	Total -K	HDL-K	LDL-K	TG	ALT	AST	BUN	WBC	Nötrofil	Lenfosit	Monosit	TSH	HT varlığı	DM varlığı	HL varlığı
rs2230062 C>T	D/D	H1	CT	264,67	E	62	-	-	111	6	217	46	192	161	17	17	16	10,9	9,1	1	0,5	3,2	+	-	+
rs2230062 C>T	D/D	H9	CT	324,81	E	56	T	CX	159	7	111	35	66	134	33	28	10	8,4	4,4	2,9	0,7	2,1	+	+	-
rs3745969 A>G	-	H1	AG	264,67	E	62	-	-	111	6	217	46	192	161	17	17	16	10,9	9,1	1	0,5	3,2	+	-	+
rs3745969 A>G	-	H2	AG	378,84	E	51	Ç	LMCA, LAD	167	8	206	31	138	239	159	102	17	5,7	2,8	2,4	0,4	2,4	+	+	+
rs3745969 A>G	-	H9	AG	324,81	E	56	T	CX	159	7	111	35	66	134	33	28	10	8,4	4,4	2,9	0,7	2,1	+	+	-
rs3745969 A>G	-	H36	AG	335,05	K	61	T	CX	151	7	187	40	130	194	72	59	15	8,1	4,9	2,3	0,7	1,5	+	+	+
rs3745969 A>G	-	H47	AG	251,69	E	52	T	RCA	195	7	197	35	168	325	26	28	18	10,1	5,1	4,1	0,7	1,3	+	+	+
rs3745969 A>G	-	H54	AG	191,02	E	55	T	LMCA	93	6	209	35	152	248	16	17	14	7,7	4,8	2	0,6	2,1	+	-	-
rs74988985 A>G	-	H2	AG	378,84	E	51	Ç	LMCA, LAD	167	8	206	31	138	239	159	102	17	5,7	2,8	24	0,4	2,4	+	+	+
rs74988985 A>G	-	H36	AG	335,05	K	61	T	CX	151	7	187	40	130	194	72	59	15	8,1	4,9	2,3	0,7	1,5	+	+	+
rs74988985 A>G	-	H44	AG	249,05	E	66	T	RCA	87	6	135	52	78	111	11	14	9	7,3	3,4	2,7	0,7	1,4	-	-	-
rs45564539 C>T	-	H2	CT	378,84	E	51	Ç	LMCA, LAD	167	8	206	31	138	239	159	102	17	5,7	2,8	2,4	0,4	2,4	+	+	+
rs45564539 C>T	-	H59	CT	326,16	K	46	Ç	LAD, RCA	131	7	163	48	111	136	21	17	11	7,3	3,9	2,6	0,5	1,8	-	-	+
rs370970279* C>T	D/D	H3	CT	355,21	E	78	Ç	CX, RCA	103	5	211	55	141	151	9	14	17	6,7	4	1,8	0,7	8	+	-	+
rs77163581 C>T	-	H5	CT	296,31	E	52	Ç	LAD, RCA	107	6	289	36	217	377	30	19	16	7,4	4,6	2,2	0,5	0,7	+	-	+
rs77163581 C>T	-	H6	CT	92,12	E	48	T	RCA	91	5	210	43	152	170	19	15	20	7,2	4,4	2,1	0,5	2,9	-	-	+

rs77163581 C>T	-	H26	CT	328,18	K	63	Ç	LAD,CX,RCA	164	7	162	59	108	103	25	29	10	3,6	2	1,2	0,3	1,7	-	+	+
rs77163581 C>T	-	H48	CT	352,43	K	79	Ç	LMCA, LAD	83	6	141	39	95	120	20	27	25	5,9	4,2	1	0,5	1,5	+	+	-
rs77163581 C>T	-	H74	CT	380,57	E	65	T	CX	120	6	195	50	150	160	30	21	15	10,5	7,2	2,6	0,7	1	+	+	+
rs146629261 C>A	-	H21	CA	314,47	E	63	Ç	LAD, CX	97	6	248	45	197	150	26	18	14	9,1	4,3	3,5	1	2,4	-	-	-
rs146629261 C>A	-	H57	CA	347,83	E	63	T	LAD	98	6	187	21	142	201	34	38	33	6,5	4,1	1,4	0,6	2,1	+	-	+
rs146629261 C>A	-	H60	CA	360,91	E	46	T	RCA	78	6	145	44	83	127	22	21	11	6,7	4,2	1,7	0,7	2,2	-	-	-
rs146629261 C>A	-	H63	CA	207,77	E	80	T	RCA	95	6	130	50	86	115	48	44	21	12,8	6,2	4,9	1,2	1,8	+	-	-
rs146629261 C>A	-	H71	CA	288,19	E	77	T	RCA	283	9	134	30	96	117	88	87	15	11	7,5	1,9	1,5	1,9	+	+	+
rs760238665* A>G	-	H32	AG	137,11	E	68	-	-	98	6	194	61	139	75	17	36	16	9,8	7,5	1,2	1	0,2	-	-	+
rs773722116* T>C	T/B	H38	TC	327,67	E	47	Ç	LMCA, LAD	98	6	168	18	86	484	26	35	12	8	6	2	0,5	1,3	-	-	-
Chr19: 34012748*	-	H44		249,05	E	66	T	RCA	87	6	135	52	78	111	11	14	9	7,3	3,4	2,7	0,7	1,4	-	-	-
Chr19: 33984237*	-	H47		251,69	E	52	T	RCA	195	7	197	35	168	325	26	28	18	10,1	5,1	4,1	0,7	1,3	+	+	+
rs149042427 C>T	D/B	H66	CT	260,82	E	64	T	LAD	101	6	207	46	167	159	19	16	19	6,8	3,5	2,4	0,8	1,4	-	-	-
rs375510790* C>T	-	H66	CT	260,82	E	64	T	LAD	101	6	207	46	167	159	19	16	19	6,8	3,5	2,4	0,8	1,4	-	-	-
rs200183031* G>A	D/D	H74	GA	380,57	E	65	T	CX	120	6	195	50	150	160	30	21	15	10,5	7,2	6	0,7	1	+	+	+

*Sadece hasta grubunda bulunan nokta değişim varyasyonu, Mutasyon tipi; SIFT/Polyphen2 tahmini olarak verilmiştir. T:Tolere edilebilir, D:Zararlı; B:Benign, Arter tutulumu; T:Tek arter tutulumu, Ç:Çoklu arter tutulumu, Sorumlu arter; LMCA: Sol ana koroner arter, LAD: Sol ön inen arter, CX: Circumfleks ater, RCA: Sağ koroner arter, HbA1c: Hemogloblin A1c, Total-K: Total Kolesterol, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, TG:Trigliserid, ALT: Alanin transaminaz, AST:Aspartat transaminaz, BUN: Kan üre azotu, WBC:Lökosit, Hgb:Hemogloblin, Hct:Hematokrit, Plt:Platelet, TSH:Tiroid stimulan hormon, HT:Hipertansiyon, DM:Diyabet, HL:Hiperlipidemi, Referans değerler: Glukoz: 70-100 mg/dL, HbA1c%: 4,8-5,6, Total kolesterol 50-200 mg/dL, HDL-K:>60 mg/dL, LDL-K:<100 mg/dL, TG: <200 mg/dL, ALT: <33 U/L, AST: <32 U/L, BUN:10-20 mg/dL, WBC:4,3-10,3x10³/µL,Nötrofil:2,1-6,1x10³/µL,Lenfosit:1,3-3,5x10³/µL,Monosit:0,3-0,9x10³/µL,TSH:0,27-4,2mU/L

Tablo 4.18 ve Tablo 4.19’da sırasıyla hasta ve kontrol grubunda *PEPD* mutasyon yüklerine göre prolidaz düzeyleri yer almaktadır. Tablo 4.20’de ise *PEPD* geni mutasyonlarını taşıyan ve taşımayan KAE ile kontrol grubu arasındaki ilişkiye bakıldığında; herhangi bir *PEPD* mutasyonu taşıyan hasta ve kontrol alt grupları arasında serum prolidaz düzeyi KAE grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı düşük tespit edilmiştir (KAE: 285,20±12,10 ng/mL vs. Kontrol: 432,62±24,43 ng/mL, p<0,001). *PEPD* mutasyonu taşımayan hasta ve kontrol alt grupları arasında ise serum prolidaz düzeyi açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (KAE: 310,65±12,82 ng/mL vs. Kontrol: 377,63±49,56 ng/mL, p>0,05).

Tablo 4-18: Hasta Grubunda *PEPD* Mutasyon Yüklerine Göre Prolidaz Düzeyleri

Kod	Prolidaz Düzey ng/mL	Mutasyon	Mutasyon Tipi	Fonksiyonel Etki	Aa Dönüşüm	Geno tip	MAF	SIFT	Polyphen2
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
H1	264,67	rs2230062	Yanlış Anlamlı	Yüksek	R388H	HT	0,02	0/D	0,997/D
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
		rs74988985	Sessiz	-	G248G	HT	0,01	-	-
H2	378,84	rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
		rs45564539	İntronik	-	-	HT	0,02	-	-
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
H3	355,21	rs370970279*	Yanlış Anlamlı	Yüksek	G296S	HT	<0,01	0/D	0,998/D
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H4	280,90	-	-	-	-	-	-	-	-
H5	296,31	rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
H6	92,12	rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
H7	291,48	-	-	-	-	-	-	-	-
H8	225,95	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H9	324,81	rs2230062	Yanlış Anlamlı	Yüksek	R388H	HT	0,02	0/D	0,997/D
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
		rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
H10	252,04	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HM	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
H11	332,88	-	-	-	-	-	-	-	-
H12	246,41	-	-	-	-	-	-	-	-
H13	278,81	-	-	-	-	-	-	-	-
H14	362,85	rs17569	Sessiz	-	H377H	HM	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HM	0,12	-	-
H15	293,38	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H16	170,62	-	-	-	-	-	-	-	-
H17	397,50	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H18	368,65	-	-	-	-	-	-	-	-
H19	349,47	-	-	-	-	-	-	-	-
H20	346,84	-	-	-	-	-	-	-	-
		rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-

H21	314,47	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HM	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs146629261	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
H22	343,04	-	-	-	-	-	-	-	-
H23	337,55	-	-	-	-	-	-	-	-
H24	309,19	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
		rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
H25	71,03	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
		rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
H26	328,18	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H27	329,69	-	-	-	-	-	-	-	-
		rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
H28	25,91	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H29	304,91	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
H30	328,18	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
H31	293,21	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
H32		rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
	137,11	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HM	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs760238665*	İntronik	-	-	HT	<0,01	-	-
H33	356,52	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H34	357,33	rs17570	Yanlış anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H35	77,02	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H36	335,05	rs74988985	Sessiz	-	G248G	HT	0,01	-	-
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
H37	252,74	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
H38	327,67	rs77372216*	Yanlış Anlamlı	Nötral	T266A	HT	<0,01	0,58/T	0,003/B
H39	354,39	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H40	345,35	-	-	-	-	-	-	-	-
H41	345,68	-	-	-	-	-	-	-	-
H42	288,02	-	-	-	-	-	-	-	-
H43	238,66	-	-	-	-	-	-	-	-
H44	249,05	rs74988985	Sessiz	-	G248G	HT	0,01	-	-
		Yeni (Chr19:34012 748)	5' UTR	-	-	HT	-	-	-
H45	366,08	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H46	342,21	-	-	-	-	-	-	-	-

		rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
H47	251,69	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
		Yeni (Chr19:33984 237)	Yanlış Anlamlı	Orta	S134C	HT	-	D	P
H48	352,43	rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
H49	429,29	-	-	-	-	-	-	-	-
H50	263,79	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
H51	298,04	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
H52	391,35	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H53	245,35	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H54	191,02	rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
H55	341,38	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
		rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
H56	322,45	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H57	347,83	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs14662926	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
H58	275,68	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H59	326,16	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs45564539	İntronik	-	-	HT	0,02	-	-
H60	360,91	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs14662926	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
H61	283,33	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H62	340,22	-	-	-	-	-	-	-	-
H63	207,77	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs146629261	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
H64	242,71	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
H65	317,36	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
H66	260,82	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B

		rs149042427	Yanlış Anlamlı	Orta	A432T	HT	<0,01	0,04/D	0,199/B
		rs375510790*	İntronik	-	-	HT	<0,01	-	-
H67	341,21	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
H68	359,44	rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HM	0,28	0,79/T	0,019/B
H69	212,71	-	-	-	-	-	-	-	-
H70	84,87	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
H71	288,19	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs146629261	İntronik	-	-	Heterozigot	0,01	-	-
H72	201,06	-	-	-	-	-	-	-	-
H73	349,64	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
H74	380,57	rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
H75	325,15	-	-	-	-	-	-	-	-
H76		rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
	389,80	rs200183031*	Yanlış Anlamlı	Orta	P365L	HT	<0,01	0/D	0,999/P

Sarı renkli işaretli olanlar yaygın görülen mutasyonlardır.

Kırmızı renkli işaretli olanlar fonksiyona olan etkisi yüksek nadir mutasyonlardır.

Yeşil renkli işaretli olanlar rs numarası olmayan yeni mutasyonlardır.

*Sadece hasta grubunda görülmektedir. SIFT ve Polyphen2 değerleri Skor/Prediction olarak verilmiştir.

HT:Heterozigot, HM:Homozigot.

Tablo 4-19: PEPD Mutasyon Yüklerine Göre Kontrol Grubunda Prolidaz Düzeyleri

Kod	Prolidaz Düzey ng/mL	Mutasyon	Mutasyon Tipi	Fonksiyonel Etki	Aa Dönüşüm	Genotip	MAF	SIFT	Polyp hen 2
K1	174,57	rs1061338	3' UTR	-	-		0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HM	0,12	-	-
		Yeni (Chr19:33954829)	İntronik	-	-		-	-	-
K2	604,09	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
K3	532,11	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
K4	46,43	-							
K5	493,52	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K6	454,28	rs149042427	Yanlış Anlamlı	Orta	A432T	HT	<0,01	0,04/D	0,199/B
		rs563348250*	Yanlış Anlamlı	Düşük	M329V		<0,01	0/D	0,626/P
K7	214,47	rs45564539	İntronik	-	-	HT	0,02	-	-
K8	650,18	-							
K9	216,21	-							

K10	367,35	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K11	697,36	rs1061338	3' UTR	-	-		0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
K12	517,51	rs1061338	3' UTR	-	-		0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
K13	544,06	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K14	425,72	rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
K15	375,79	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
K16	687,14	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K17	644,40	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
K18	178,90	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs2230062	Yanlış Anlamlı	Yüksek	R388H	HT	0,02	0/D	0,997/D
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
K19	623,36	-	-	-	-	-	-	-	-
K20	531,37	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
K21	530,64	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
K22	620,82	-	-	-	-	-	-	-	-
K23	288,73	-	-	-	-	-	-	-	-
K24	672,21	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs146629261	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
K25	179,37	rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
K26	603,27	-	-	-	-	-	-	-	-
K27	495,59	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs146629261	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
K28	560,10	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
K29	431,17	rs17569	Sessiz	-	H377H	HM	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K30	124,20	rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
K31	442,89	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
K32	912,09	rs17569	Sessiz	-	H377H	HM	0,10	-	-

		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K33	560,87	rs77690463*	3'UTR	-	-		0,02	-	-
K34	226,43	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K35	471,20	rs77690463*	3'UTR	-	-		0,02	-	-
K36	469,22	rs77690463*	3'UTR	-	-		0,02	-	-
K37	281,12	rs77163581	İntronik	-	-	HT	0,03	-	-
K38	169,92	-	-	-	-	-	-	-	-
K39	65,51	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
K40	521,85	Yeni (Chr19:34002055)	Yanlış Anlamlı	Orta	P70L		-	D	P
		Yeni (Chr19:34002060)	Yanlış Anlamlı	Yüksek	E68G		-	D	D
K41	203,79	-	-	-	-	-	-	-	-
K42	174,79	-	-	-	-	-	-	-	-
K43	482,58	rs45564539	İntronik	-	-	HM	0,02	-	-
K44	190,47	rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/ B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
		rs146629261	İntronik	-	-	HT	0,01	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K45	169,49	-	-	-	-	-	-	-	-
K46	256,34	rs74988985	Sessiz	-	G248G	HT	0,01	-	-
		rs45564539	İntronik	-	-	HT	0,02	-	-
K47	95,36	rs149579451	Sessiz	-	H366H		<0,01	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K48	255,62	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HM	0,28	0,79/T	0,019/ B
K49	648,42	-	-	-	-	-	-	-	-
K50	394,37	-	-	-	-	-	-	-	-
K51	357,57	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/ B
K52	695,49	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/ B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-
K53	156,90	-	-	-	-	-	-	-	-
K54	490,07	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K55	537,31	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K56	742,46	-	-	-	-	-	-	-	-
K57	220,35	rs17569	Sessiz	-	H377H	HM	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HM	0,12	-	-
K58	914,42	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
K59	468,56	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
		rs3745969	Sessiz	-	Y220Y	HT	0,03	-	-
K60	719,13	-	-	-	-	-	-	-	-
K61	323,30	rs373639982	Sessiz	-	S134S		<0,01	-	-
K62	501,17	-	-	-	-	-	-	-	-
K63	636,22	-	-	-	-	-	-	-	-
K64	281,91	-	-	-	-	-	-	-	-
K65	490,76	-	-	-	-	-	-	-	-
K66	137,10	rs1061338	3' UTR	-	-	HM	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HM	0,28	0,79/T	0,019/ B
K67	363,72	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/ B
K68	578,14	rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/ B
		rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HM	0,12	-	-
K69	241,85	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-

		rs755350900*	Yanlış Anlamlı	Orta	I111V		<0,01	0,07/T	0,024/B
K70	19,99	-	-	-	-	-	-	-	-
K71	484,61	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K72	396,62	rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K73	190,22	-	-	-	-	-	-	-	-
K74	644,91	rs17569	Sessiz	-	H377H	HT	0,10	-	-
		rs75449530	İntronik	-	-	HT	0,12	-	-
K75	91,71	rs1061338	3' UTR	-	-	HT	0,26	-	-
		rs17570	Yanlış Anlamlı	Düşük	L435F	HT	0,28	0,79/T	0,019/B
		rs16968070	İntronik	-	-	HT	0,21	-	-

Sarı renkli işaretli olanlar yaygın görülen mutasyonlardır.

Kırmızı renkli işaretli olanlar fonksiyona olan etkisi yüksek nadir mutasyonlardır.

Yeşil renkli işaretli olanlar rs numarası olmayan yeni mutasyonlardır.

*Sadece kontrol grubunda görülmektedir. SIFT ve Polyphen2 değerleri Skor/Prediction olarak verilmiştir.

HT:Heterozigot, HM:Homozigot

Tablo 4-20: *PEPD* Geni Mutasyonlarını Taşıyan ve Taşımayan KAE ile Kontrol Grubu Arasındaki İlişki

	<i>PEPD</i> Mutasyon (+)	<i>PEPD</i> Mutasyon (-)
KAE	285,20 ±12,10	310,65 ±12,82
KONTROL	432,62 ±24,43	377,63 ±49,56
p değeri	<0,001	0,207

PEPD Mutasyon (+), herhangi bir *PEPD* mutasyona sahip; *PEPD* Mutasyon (-), herhangi bir *PEPD* mutasyona sahip olmayan. Tablodaki değerler ortalama ±standart hata ve ng/mL olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Koroner arter ektazi, koroner arterin yaygın dilatasyonu olarak görülen nadir kardiyovasküler bozukluklardan biridir. Komşu normal koroner arterin 1,5 katı çapında dilatasyon olarak tanımlanır (Hartnell ve ark. 1985). Prevalansı %1,2 ile %4,9 arasında değişmekte olup, erkeklerde kadınlara göre 3 kat daha fazla görülür (<https://clinicaltrials.gov/>). KAE'nin altında yatan mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte KAE prevalansı son yıllarda artış göstermektedir (Li ve ark. 2007; Yetkin ve Waltenberger 2007). KAE etiyolojisinde; ateroskleroz, mediadaki destek dokuyu zayıflatan Poliarteritis Nodosa ve Ehler Danlos gibi kollajen bağ dokusu hastalıklarının da yer aldığı bilinmektedir (Befeler ve ark. 1977). Koroner arter duvarındaki bağ dokusunun zayıflaması pozitif yeniden biçimlenmeye neden olmaktadır. KAE'de pozitif yeniden biçimlenme sürecinin bozulduğu kabul edilmektedir (Ge ve ark. 1993).

Doku hacminin önemli bir kısmı hücre dışı matriksi oluşturan karmaşık bir makromolekül ağının olduğu hücre dışı boşluktur. Bu matriks, onları salgılayan hücre yüzeyi ile yakından ilişkili olan çeşitli protein ve polisakkaritlerin iyi tanımlanmış olduğu bir ağıdır. Kollajen, hücre dışı matriksin ana bileşenidir. Kollajen, aynı zamanda integrin reseptörleri için ligand görevi yanında lipid metabolizmasında, iyon taşınmasında, çeşitli kinazların aktivasyonunda ve gen ekspresyonunu düzenleyen sinyalizasyonda önemli bir rol oynar. Bu nedenle, kollajenlerin dokulardaki yapısı, miktarı ve dağılımındaki herhangi bir değişiklik; hücre sinyali, metabolizma ve fonksiyon gibi bir dizi fizyolojik süreci etkileyebilir (Bhatnager ve Dang 2018). Prolidaz aktivitesindeki herhangi bir değişiklik, bozulmuş kollajen metabolizmasına yol açabilir ve bu durum hastalıkla sonuçlanabilir (Viglio ve ark. 2006; Phang ve ark. 2010). Azalan kollajen biyosentezi ve artmış kollajenoliz arter duvarlarında ektazik /anevrizmal ilerlemeye neden olabilir. Prolidaz kollajen sentezinde rol oynadığından prolidaz aktivitesinin ya da düzeyinin azalması ektazik oluşumuna katkıda bulunabilecek kollajen biyosentezini azaltabilir (Bakuy ve ark. 2014). Gavish ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada abdominal aort anevrizmasında damar dallanma noktalarındaki inflamatuvar hücre aracılı defektlerin kollajen takviyesiyle anevrizma gelişimini engelleyebileceğini ortaya koymuşlar ve bu stratejinin yavaş ilerleyen anevrizmaların tedavisi için önemli bir terapötik hedef olabileceğini öne sürmüşlerdir

(Gavish 2014). Fizyolojik prolidaz düzeylerinin bir takım hastalıklarla ilişkili olduğu bulunmuştur, ancak yine de kesin rolü belirsizdir. Prolidaz seviyesinin prolidaz eksikliğinde önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Bhatnager ve Dang 2018). Bakuy ve ark. yaptığı aterosklerotik olmayan koroner arter anevrizmaları ile prolidaz aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, ortalama prolidaz aktivitesi koroner anevrizma grubunda 241.6 ± 54.4 mU/mL iken kontrol grubunda 730.3 ± 243.1 mU/mL olarak bulunmuştur ($p < 0,001$) (Bakuy ve ark 2014). Akturk ve ark. izole KAE hastalarında serum prolidaz aktivitesi üzerine yaptığı bir çalışmada ise, KAE grubunda serum prolidaz aktivitesi anlamlı derecede yüksek ($p < 0.001$) bulunmuştur (Akturk ve ark. 2014). Literatürde, KAE ve serum prolidaz düzeyinin araştırıldığı bir çalışmaya ise rastlanmamıştır.

Deneyisel sonuçlarımıza göre de KAE hastalarındaki serum prolidaz seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Hasta grubuna ait 75 örneğin elisa sonuçları $292,66 \pm 9,39$ ng/mL iken 75 kontrol grubuna ait örneğin elisa sonuçları $415,76 \pm 24,33$ ng/mL'dir. Hasta ve kontrol grubu örnekleri karşılaştırıldığında istatistiki olarak yüksek anlamlı farklılık görülmüştür ($p < 0,001$, OR:123,09, CI:71,53-174,64).

Koroner Arter Ektazi, %85 oranında Koroner Arter Hastalığı (KAH) ile birlikte görülür (Demopoulos ve ark. 1997; Yetkin ve Waltenberger 2007). KAH ve KAE'nin bir arada bulunmasına paralel olarak her iki hastalık histolojik olarak incelendiğinde; mediadaki elastik liflerin, iç ve dış elastik laminanın zarar gördüğü gözlenmiştir (Daoud 1963; Markis 1976). Bu benzerlikler, KAE'nin aterosklerozun bir alt türünü temsil edebileceği hipotezine yol açmıştır. Öte yandan KAE, patogenezi ve klinik özellikleri açısından ateroskleroza göre bazı farklılıklar da göstermektedir. KAE'de KAH olanlarda da olduğu gibi hipertansiyon, erkek cinsiyet faktörü ve hiperlipidemi gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin hastalığın patogeneziye katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Yetkin ve Waltenberger 2007). Bermudez ve ark. (Bermudez ve ark. 2003), Androulakis ve ark. (Androulakis ve ark. 2004), Huang ve ark. (Huang ve ark. 2014) yaptıkları meta-analizde koroner arter ektazi ve diyabet arasında doğrudan bir ilişki bulamamışlar, bunun yanında diyabet ve abdominal aort anevrizması (AAA) arasında ise prevalans ve hastalık ilerlemesi açısından ters bir ilişki tespit etmişlerdir. Ancak, hiperkolesterolemi ve AAA arasında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda doğru bir ilişki bildirilmiştir (Gertz ve ark. 2015). KAE histopatolojisinde,

vasküler duvar içinde yoğun proteoliz ve hücre dışı matriks (ECM) yıkımı mevcuttur. Bununla birlikte, diyabet hastalarındaki yüksek glikoz seviyesi ECM'in protein öncüllerinin glikasyonunu artırır ve bu nedenle glikasyon son ürünlerinin sentezi artar. Artmış olan glikasyon son ürünleri, düz kas hücrelerinin proliferasyonuna, ECM genişlemesine ve arter duvarının negatif şekillenmesine teşvik ederek ateroskleroza önleyen bazal membran kalınlaşmasına sebep olur. (Huang ve ark. 2014; Gertz ve ark. 2015; Kolset ve ark. 2012). Klinik verilerimiz yapılan çalışmaları desteklemektedir. Çalışma popülasyonumuzdaki hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabete sahip olma oranları ile grupların birbirine olan anlamlılık derecesine bakıldığında, KAE hasta grubunda kontrol grubuna göre hipertansiyon prevalansı (KAE: %56,6 vs. Kontrol: %34,2; **p=0,006**, OR:2,506 %95 CI 1,300-4,829.) ve hiperlipidemi prevalansı (KAE: %57,9 vs. Kontrol: %34,2; **p<0,001** OR:3,375 %95 CI 1,722-6,616) istatistiksel olarak anlamlı yüksek gözlenmiştir.

İzole koroner arter ektazi ile koroner arter hastalıklarının klinik ve morfolojik özellikleri bazı farklılıklar da gösterir. Virmani ve arkadaşları tarafından yapılan KAE'li 52 hastanın otopsi çalışmasına göre KAH'li hastaların çoğu izole KAE'li hastalara göre daha fazla semptomatiktir ve %89 lümeninde trombüs bulunan tek bir anevrizma vardır. Ancak, izole KAE hastaları daha gençtir, çoklu koroner anevrizmaları vardır (Virmani ve ark. 1986). Çalışmamızda yer alan hasta grubunu oluşturan koroner arter ektazi tanısı almış hastaların %60,5'inde CX, %59,2'sinde RCA, %40,8'inde LAD ve %10,5'unda LMCA damar etkilenmesi tespit edilmiştir. Hasta grubunu oluşturan 76 KAE hastasının 45'inde (%59,2) tek koroner arter etkilenmesi mevcut iken, 31'inde (%40,8) çoklu damar etkilenmesi mevcuttur. *PEPD* geni yaygın polimorfizmleri genotiplerinin ise hasta grubunda tekli/çoklu arter etkilenmesi ile olan ilişkisine bakıldığında; istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Koroner arter ektazi patogenezinde lipid parametrelerinin rolüne bakıldığında, KAE ve plazma lipoprotein düzeyleri arasındaki ilişkiyi açıklayan ilk çalışma koroner arter anevrizması ve ailesel hiperkolesterolemi arasındaki çalışmasıyla ortaya koyulmuştur (Genda ve ark. 1987; Mabuchi ve ark. 1986). KAE'nin heterozigotik ailesel hiperkolesterolemi hastalarında ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein ile ilişkili kolesterol (HDL-K) düzeylerinde daha sık görüldüğü gösterilmiştir. Daha önce literatürde bildirildiği gibi, serum düşük yoğunluklu

lipoprotein kolesterol (LDL-K) seviyelerinde yapılan plazma değişimi, heterozigotik ailesel hiperkolesterolemi hastalarında koroner ektazinin anjiyografik iyileşmesini sağlamıştır (Thompson ve ark. 1980). LDL-K; elastin, kollajen ve proteoglikanlara bağlanır ve okside edilir. Makrofajlar ve düz kas hücreleri okside LDL'yi yakalar ve bu işlem köpük hücre oluşumuyla sona erer. Bu köpük hücreleri MMP-2, MMP-9 ve MMP-12 gibi ECM degradasyon enzimlerini indükleyerek ECM bozulmasını aktive eder (Gertz ve ark. 2015; Antoniadis ve ark. 2008). Lipid parametreleri ve KAE arasında bir ilişki olup olmadığı konusunda literatür taramasında çok fazla çalışma yoktur. Kundi ve arkadaşları tarafından yapılan monosit/HDL-K oranının KAE'li ve normal koroner arterleri olan hastaların kıyaslandığı bir çalışmada yüksek bir anlamlılıkla artış gösterdiği görülmüştür. Ayrıca monositin HDL-K'ye oranı, artan monosit sayısının ve azalmış HDL-K seviyeleriyle bağlantılı olarak hastalığın ciddiyeti ile ilişkilendirilmiştir (Kundi ve ark 2015, Tosu ve ark 2019). Analiz sonuçlarımız yapılan çalışmaları desteklemektedir. Çalışmamızda koroner arter ektazi hasta grubunun; hiperlipidemiye sahip olma oranı (HL) ($p<0,001$) ve trigliserid ($p=0,048$) kontrol grubunkinden anlamlı derecede daha yüksektir. HDL-K ise kontrol grubunda anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p=0,02$). Monosit/HDL-K ($p=0,15$), nötrofil/lenfosit ($p=0,41$) ve plt/lenfosit ($p=0,46$) değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir ($p>0,05$). Ayrıca çalışmamızda bazı nadir mutasyonlara sahip olan hastaların hiperlipidemik profile sahip olduğu görülmüştür. Dolayısıyla da bu mutasyonların KAE gelişimine yatkınlık sağlayabileceği görülmüştür. Daha büyük çalışma popülasyonlarında anlamlılığının incelenmesi ve teyit edilmesi gerekmektedir.

Koroner arter ektazi patogenezinde çalışılan inflamasyonla veya prognozla ilişkili olabilecek birçok hücrel ve biyokimyasal parametre vardır. İnflamasyonunun, koroner aterosklerozun patogenezinde belirgin bir rol oynadığı bilinmektedir (Libby 2012). Koroner damarların anevrizmal dilatasyonunun patofizyolojik ve moleküler mekanizmalarında inflamasyon anahtar rol oynar (Li 2011). Keser ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, periferik kandaki eritrosit düzeylerindeki artışın KAE ve hastalığın ciddiyeti ile pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir (Keser ve ark. 2016). Demir ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada KAE hastalarında çalışma grubundaki kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek monosit sayısı ve ortalama trombosit hacmi gözlenmiştir (Demir ve ark. 2014). Bununla bağlantılı olarak, Ayhan ve arkadaşlarının

yaptığı bir çalışmada, periferik kandaki nötrofilin lenfosit oranı KAE'li hastalarda daha yüksektir ve ektazinin ciddiyeti ile pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir. (Ayhan 2013). Kundi ve ark. yaptığı bir çalışmada KAE hastalarının trombosit / lenfosit oranı KAH ve normal koroner arter hastalarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, yüksek trombosit / lenfosit oranının ektazinin şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kundi ve ark. 2016). Varol ve ark. yaptığı başka bir çalışmada ise ortalama trombosit hacim değerlerinin KAE hastalarında kardiyak olayları öngörmek için prognostik değere sahip olduğunu göstermiştir (Varol ve ark. 2012). Çalışmamızda koroner arter ektazi hasta grubunun; HbA1c% ($p=0,026$), kreatinin ($p=0,021$), alanin aminotransferaz (ALT) ($p=0,036$), aspartat aminotransferaz (AST) ($p=0,027$) değerleri kontrol grubundan daha yüksektir. HDL-K ise KAE grubunda kontrol grubuna göre daha düşüktür ($p=0,02$). AST ve ALT düzeyleri referans sınırlarında yer alarak kontrol grubunkinden daha yüksektir. Her iki grup arasında lenfosit ($p=0,32$), monosit ($p=0,68$) ve nötrofil ($p=0,78$) düzeyleri ise benzer bulunmuştur. Literatürde daha önce KAE ile karaciğer enzimleri olan ALT ve AST değerleri arasında ilişkiye rastlanmamıştır. Gao ve ark. yaptığı bir çalışmada, primer perkutan koroner girişim geçirmiş hastalarda anlamlı derecede yüksek ALT ($p<0,001$) ve AST ($p<0,001$) değerleri görülmüştür (Gao ve ark. 2017). Kollajen, hepatik fibrozisin değerlendirilmesi için önerilen parametrelerden biridir. Bazı çalışmalarda ise sıklıkla bağ doku artışının görüldüğü fibrozis karakterli karaciğer hastalıkları sırasında kollajen sentezi veya degradasyonunun (veya her ikisinin) değişebileceğini öne sürülmüştür (Rauterberg ve ark. 1987; Popper ve ark. 1978; Myara ve ark. 1984).

Çalışmamızda yaygın görülen rs17570, rs17569, rs75449530, rs1061338 ve rs16968070 polimorfizmleri arasında immün sistem hücrelerinin istatistiksel olarak anlamlı artışı görülmemiştir. Fakat çalışmamızda nadir görülen bazı mutasyonlara (rs2230062, rs3745969, rs77163581, rs146629261, rs760238665, rs200183031) bakıldığında immün sistem hücrelerinin normal aralığın üzerinde oldukları görülmüştür. Bu mutasyonların daha büyük çalışma popülasyonlarında anlamlılığının incelenmesi ve teyit edilmesi gerekmektedir.

Koroner arter ektazi, erkeklerde kadınlara göre 3 kat daha fazla görülür (<https://clinicaltrials.gov/>). PEPD geni yaygın polimorfizmleri genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarında cinsiyetle olan ilişkisine bakıldığında; kontrol grubunda rs17570

mutant “A” allel frekansı erkeklerde kadınlara göre daha yüksek (%38,3 → %13,8, **p=0,036**) görülmüştür. rs17570 nadir “A” alleli KAE hastalarında ayrıca düşük serum prolidaz düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (**p=0.04**). Erkek cinsiyetinin koroner arter ektazi için risk olduğu ve çalışmamızda serum prolidaz düzeylerinin KAE hastalarında daha düşük tespit edildiği göz önüne alındığında rs17570 varyasyonunu özellikle erkek hastalarda KAE için risk oluşturduğunu söylemek mümkündür. KAE hasta grubunda rs17569 varyasyonunun cinsiyet dağılımına bakıldığında ise “A” alleli erkeklerde daha düşük bulunmuştur (14,8→36,4, **p=0,037**). rs17569 nadir “A” alleleline ayrıca kontrol grubunda yüksek serum prolidaz düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (**p=0.01**). Erkek cinsiyetinin koroner arter ektazi için risk olduğu ve çalışmamızda serum prolidaz düzeylerinin KAE hastalarında daha düşük tespit edildiği göz önüne alındığında rs17569 nadir “A” alleleline sahip olmanın özellikle erkek hastalarda KAE için koruyucu etki gösterebileceği düşünülebilir.

Haploview programıyla yapılan analizde “**tek allel**” incelemesinde incelenen markerlardan sadece **M1** (rs1061338 A>G) polimorfizmi G allelinin istatistiksel anlamlılığa yakın KAE için riski ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (**p=0,054**); “**İki allel Haplotip analizinde**; **M1** (rs1061338 A>G) ve **M3** (rs17569 G>A) polimorfizmleri- GG haplotipinin (**p=0,054**); **M1** (rs1061338 A>G) ve **M4** (rs75449530 T>C) polimorfizmleri- GT haplotipinin (**p=0,054**); **M1** (rs1061338 A>G) ve **M2** (rs17570 G>A) polimorfizmleri- GG haplotipinin (**p=0,047**) KAE riski ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. “**Üç Allel Haplotip analizinde**” ise: **M1** (rs1061338 A>G) ve **M2** (rs17570 G>A) ve **M3** (rs17569 G>A) polimorfizmleri- GGG haplotipinin (**p=0,047**); **M1**(rs1061338 A>G) ve **M2** (rs17570 G>A) ve **M4** (rs75449530 T>C) polimorfizmleri- GGT haplotipinde (**p=0,047**); **M1** (rs1061338 A>G) ve **M3** (rs17569 G>A) ve **M4** (rs75449530 T>C) polimorfizmleri- GGT haplotipinin (**p=0,059**) KAE riski ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. ***Haplotip analizlerinde KAE riski açısından özellikle M1 (rs1061338 A>G) nadir G alleli ve M2 (17570 G>A) normal G allelini birlikte taşımanın KAE risk artışıyla yakın ilişkili olduğu gözlenmiştir.***

Proteinlerin kodlama bölgesinde bulunan tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), proteinin birincil yapısını ve fonksiyonunu değiştirme potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla, potansiyel zararlı SNP'leri nötr olanlardan ayırmak gerekir. dbSNP veritabanından in-silico analizi ile alınan prolidaz genindeki 298 SNP'nin 19 tanesinin,

zarar verici olduğu ön görülmüştür. Zararlı bir etkiye sahip olduğu gözlemlenen 4 substitüsyon (D276N, D287N, E412K ve G448R) katalitik cepte bulunur. Sırasıyla rs121917721, rs201584435, rs267606944 ve rs121917724'tür. Ek yeri bölgesinde listelenen dört SNP'nin, alıcı yeri değiştirerek mRNA'nın eklenmesini etkilediği bulunmuştur. Bu sonuçlar, hastalık duyarlılığı ile ilişkilerini bulmak ve tedavide için hedefe bağlı ilaçları tasarlamak için önemlidir (Bhatnager ve Dang 2018).

Nonsinonim olan polimorfizmler, protein yapısında amino asit değişimi yapan nokta mutasyonlarıdır. Birincil amino asit sekansı, olgun protein yapısından ve proteinin fonksiyonundan sorumlu faktörlerden biridir. Bu değişiklikler protein yapısını etkileyebileceğinden, bu polimorfizmlerin yapı ve fonksiyon üzerindeki etkilerini detaylı olarak incelemek ve zarar verici mutasyonları ortaya koymak önemlidir. Ayrıca gen ekspresyonu ve transkripsiyon sonrası modifikasyonlar, prolidazın fizyolojik seviyesini değiştirme potansiyeline sahip olabilir. *PEPD* geni SNP'lerinin çoğu, hastalıklara neden olma potansiyeli açısından hala karakterize edilmemiştir. (Bhatnager ve Dang 2018).

Tez çalışmamızda Prolidazı enzimini kodlayan *PEPD* geninin yeni nesil dizileme yöntemi olan MiSeq ile dizilenmesi gerçekleştirilmiştir. Koroner arter ektazi ve kontrol gruplarında *PEPD* geninde yaygın görülen ekzonik ve intronik varyasyonların genotip ve allel dağılımlarına bakıldığında hasta ve kontrol grupları arasında fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Deneysel sonuçlara göre yaygın görülen varyasyonlar; rs17570 G>A, rs17569 G>A, rs75449530 T>C, rs1061338 A>G ve rs16968070 T>C'dir. Lillvis ve ark. yaptığı aortik anevrizmalarda *PEPD* geni analizinde saptanan dizi değişiklikleri, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla benzerdir (Lillvis ve ark. 2011). Bu varyasyonların klinik ve biyokimyasal parametrelerle olan ilişkisine bakıldığında;

PEPD geni rs17570 G>A (L435F) genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs17570 A alleli taşıyanların (GA+AA), GG genotipine sahip olanlara göre ($p=0,04$) ve GA genotipi taşıyanlar GG genotipi taşıyanlara göre ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük serum prolidaz düzeyine sahip olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise, grubunda anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

PEPD rs17570 varyasyonunda “A” mutant alleleline sahip olma prolidaz düzeyini düşürerek KAE eğilimini arttırabilir.

PEPD geni rs17569 G>A (H377H) genotiplerinin KAE grubunda *PEPD* rs17569 A alleli taşıyanların (GA+AA), GG genotipine sahip olanlara göre anlamlı derecede daha düşük aspartat transaminaz (AST) düzeyine (**p=0,007**) sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak AST seviyeleri normal referans sınırları içinde yüksektir Kontrol grubunda ise, *PEPD* rs17569 A alleli taşıyanların (GA+AA), GG genotipine sahip olanlara göre (**p=0,01**) ve GA genotipi taşıyan bireyler GG genotiplilere göre (**p=0,021**) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek serum prolidaz düzeyine sahip olduğu gözlenmiştir. **PEPD rs17569 varyasyonunda “G” yabani tip alleleline sahip olma, prolidaz seviyesini yükselterek KAE için koruyucu etki gösterebilir.**

PEPD geni rs75449530 intronik varyantında T>C genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs75449530 C alleli taşıyanların (TC+CC), TT genotipine sahip olanlara göre anlamlı derecede daha düşük aspartat transaminaz (AST) düzeyine (**p=0,027**) sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak AST seviyeleri normal referans sınırları içinde yüksektir. Kontrol grubunda ise, grubunda anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

PEPD geni rs1061338 3’UTR varyantında A>G genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE hasta grubunda heterozigot AG genotipi AA’lara göre daha düşük serum prolidaz düzeyleri ile ilişkili gözlenirken (**p=0,037**) kontrol grubunda bu gen varyasyonunun incelenen parametrelerle ve serum prolidaz düzeyi ile arasında anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

PEPD geni rs16968070 intronik varyantında T>C genotiplerinin çalışma gruplarında biyokimyasal ve klinik parametrelere etkisi incelendiğinde; KAE grubunda *PEPD* rs1698070 nadir C alleli (TC+CC), TT genotipine göre daha düşük serum prolidaz düzeyi ile ilişkilidir (**p=0,05**). **PEPD rs16968070 varyasyonunda nadir “C” alleleline sahip olma, prolidaz seviyesini düşürerek KAE eğilimini arttırabilir.** Kontrol grubunda ise, grubunda anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

H1 kodlu 62 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878977'de lokalize olan **rs2230062** mutasyonu (C>T) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,02'dir. Bu değişimde zararlı olarak tanımlanan (www.ensembl.org) R388H yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **yüksek** olarak tanımlanmıştır. H1 kodlu hasta ayrıca Chr19:33953912'de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,03'tür. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, fenotipte aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu ise heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Klinik olarak bu hastanın hipertansiyon ve hiperlipidemi geçmişi olan hastanın nötrofil değeri $9,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ olarak gözlenip, normalden yüksektir. Hastanın prolidaz düzeyi ise KAE hasta grubunun ortalamasından (292,66 ng/ml) daha düşük (264,67 ng/ml) bulunmuştur. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33878977'de lokalize olan rs2230062 mutasyonu (C>T) serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik ve hipertansif profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (nötrofil) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H2 kodlu 51 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912'de yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,03'tür. Y220Y olarak **sessiz** mutasyon olarak yer alır ve proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:33902652'de lokalize olan rs74988985 mutasyonu (A>G) heterozigot olarak yer alır. MAF değeri 0,01'dir. Bu mutasyon (G248G) aminoasit değişimine sebep olmayıp sessiz bir değişim olarak tanımlanmaktadır ve proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:34003712'de lokalize olan **rs45564539** intronik değişimini (C>T) ise heterozigot olarak taşır. Bu intronik noktanın MAF değeri 0,02'dir. Bu hastanın LMCA ve LAD koroner arterlerinde ektazi bulunmakta olup, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabet geçmişi bulunan hastanın prolidaz düzeyi (378,84 ng/ml) ise KAE hasta grubunun ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubu ortalamasına göre (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde,**

chr19:33953912'de lokalize olan rs3745969 A>G, chr19:33902652'de lokalize rs74988985 A>G ve chr19:34003712'de lokalize rs45564539 C>T mutasyonları serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik ve hipertansif profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.

H3 kodlu 78 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33892708'de yer alan rs370970279 mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir. Bu değişimde zararlı olarak tanımlanan (www.ensembl.org) G296S yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **yüksek** olarak tanımlanmıştır. Bu mutasyon sadece hasta grubu içerisinde ve sadece H3 kodlu hastada görülmüş olup, minör allel frekansı, <0,01'dir. Hasta ayrıca Chr19:33882222'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17569** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (H377H) aminoasit değişimine sebep olmayıp, sessiz varyasyon olarak görülmektedir. MAF değeri 0,1'dir. Hastada Chr19:33953831'de lokalize olan ve yaygın görülen **rs75449530** intronik değişimi (T>C) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,12'dir. Hastanın koroner arterlerinde CX ve RCA etkilenmesi, hipertansiyon ve hiperlipidemi mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (355,21 ng/ml) ise KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubuna (415,76 ng/ml) göre düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33892708'de lokalize olan rs370970279 C>T, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik ve hipertansif profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H5 kodlu 52 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666'da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,03'tür. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu ise heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastanın koroner arterlerinde LAD ve RCA etkilenmesi, hipertansiyon ve hiperlipidemi mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (296,31 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasına (292,66 ng/ml) yakın fakat, kontrol

grubuna (415,76 ng/ml) göre oldukça düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de PEPD’in etkisini incelediğimizde, chr19: 33878666’de lokalize olan rs77163581 C>T, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik ve hipertansif profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H6 kodlu 48 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666’da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri 0,03’tür. Hastanın koroner arterlerinde RCA etkilenmesi ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (92,12 ng/ml) ise KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu (415,76 ng/ml) ortalamasından oldukça düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de PEPD’in etkisini incelediğimizde, chr19: 33878666’de lokalize olan rs77163581 C>T, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H9 kodlu 56 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33878977’de lokalize olan **rs2230062** mutasyonu (C>T) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,02’dir. Bu değişimde **zararlı** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) R388H yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **yüksek** olarak tanımlanmıştır. Hastada ayrıca Chr19:33953912’de lokalize yer alan rs3745969 mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, proteinde aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Koroner arterlerinde CX etkilenmesi, hipertansiyon ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (324,81 ng/ml) ise KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek iken kontrol grubu ortalamasına (415,76 ng/ml) göre düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de PEPD’in etkisini incelediğimizde, chr19:33878977’de lokalize olan rs2230062 C>T ve chr19:33953912’de lokalize rs3745969 A>G mutasyonları serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H21 kodlu 63 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr:1933904449’da lokalize olan **rs146629261** intronik değişimi (C>A) heterozigot

olarak bulunur. MAF değeri 0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen rs17570 varyasyonu homozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hasta ayrıca Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişiminde ise (A>G) homozigot olarak bulunur (MAF:0,26). Klinik olarak bu hastanın hipertansiyon ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek (314,47 ng/ml) fakat kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olduğu gözlenmiştir. **KAE'de PEPD'in etkisini incelediğimizde, chr19: 1933904449'da lokalize olan rs146629261 mutasyonu (C>A) serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik ve hipertansif profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (monosit) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H26 kodlu 63 yaşındaki kadın hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666'da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak görülmektedir (MAF: 0,03). Chr19:33882222'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17569** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (H377H) aminoasit değişimine sebep olmayıp, sessiz varyasyon olarak görülmektedir. MAF değeri 0,1'dir. Hastada ayrıca Chr19:33953831'de lokalize olan ve yaygın görülen **rs75449530** intronik varyant değişimi (T>C) heterozigot olarak görülmektedir (MAF:0,12). Koroner arterlerinde LAD, CX, RCA etkilenmesi, hiperlipidemi ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (328,18 ng/ml) KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek iken kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de PEPD'in etkisini incelediğimizde, chr19:33878666'da lokalize olan rs77163581 C>T mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H32 kodlu 68 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33904571'de yer alan ve çalışma grubunda sadece bu hastada görülen **rs760238665** intronik varyantı (A>G) heterozigot olarak görülmektedir. MAF değeri <0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu homozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign

olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastada ayrıca Chr19:33878198'de yer alan rs1061338 yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) homozigot olarak (MAF değeri 0,26) ve Chr19:33882458'de lokalize yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** varyasyonu ise heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Nötrofil ($7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) değeri yüksek ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (137,11 ng/ml) ise KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubundan (415,76 ng/ml) oldukça düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33904571'de lokalize olan rs760238665 varyasyonu (A>G) serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (nötrofil, monosit) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H36 kodlu 61 yaşındaki **kadın** hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912'de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (Y220Y) **sessiz** bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Chr19:33902652'de lokalize olan **rs74988985** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak yer alır. Bu değişim (G248G) sessiz bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Hastanın koroner arterlerinde CX etkilenmesi, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (335,05 ng/ml) hasta grubu ortalamasından yüksek (292,66 ng/ml) iken kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19: 33953912'de lokalize olan rs3745969 A>G mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif ve hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H38 kodlu 47 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33902600'de lokalize olan ve çalışma grubunda sadece tek görülen **rs773722161** mutasyonu (T>C) heterozigot görülür. MAF değeri, <0,01'dir. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) (T266A) yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org)

nötral olarak tanımlanmıştır. Hastanın koroner arterlerinde LMCA, LAD etkilenmesi ve hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (327,67 ng/ml) hasta grubu ortalamasından yüksek iken (292,66 ng/ml) kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) oldukça düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de *PEPD*’in etkisini incelediğimizde, chr19:33902600’da lokalize olan rs773722161 T>C mutasyonu, serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H44 kodlu 66 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33902652’de lokalize olan **rs74988985** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak yer alır. MAF değeri 0,01’dir. Bu değişim (G248G) **sessiz** bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Bu hastada ayrıca chr19:34012748 5’UTR’de lokalize yeni tanımlanan bir mutasyon görülmektedir. Hastanın koroner arterlerinde RCA tutulumu olup prolidaz düzeyi (249,05 ng/ml) KAE hasta (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de *PEPD*’in etkisini incelediğimizde, chr19: 33902652’de lokalize olan rs74988985 A>G, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H47 kodlu 52 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912’de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,03’tür. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Bu hastada ayrıca **chr19:3398423’de** lokalize olan yanlış anlamlı mutasyon (S134C) mevcut olup protein üzerinde nötral etkilidir ve proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) yer alır. Hastada Chr19:3387883’de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu ise heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28’dir. Hastada Chr19:33878198’de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3’UTR değişimi (A>G) de heterozigot olarak (MAF değeri 0,26) ve Chr19:33882458’de lokalize yer alan yaygın

olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot olarak bulunmaktadır (MAF değeri 0,21). Koroner arterlerinde RCA tutulumu, hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (251,69 ng/ml) KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu (415,76 ng/ml) ortalamasından düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de *PEPD*’in etkisini incelediğimizde, chr19: 33953912’de lokalize olan rs3745969 mutasyonu (A>G), chr19:3398423’de lokalize olan yanlış anlamlı mutasyonda (S134C) değişimi serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif ve hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (lenfosit) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H48 kodlu 79 yaşındaki kadın hastada, *PEPD* geninde chr19:33878666’da yer alan **rs77163581** intronik mutasyonu (C>T) heterozigot olarak (MAF değeri 0,03) ve Chr19:33882222’de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17569** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişim (H377H) aminoasit değişimine sebep olmayıp, sessiz varyasyon olarak görülmektedir. MAF değeri 0,1’dir. Hastanın koroner arterlerinde LMCA, LAD tutulumu, hipertansiyon ve diyabeti olan hastanın prolidaz düzeyi (352,43 ng/ml) KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de *PEPD*’in etkisini incelediğimizde, chr19:33878666’da lokalize olan rs77163581 C>T, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H54 kodlu 55 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33953912’de lokalize yer alan **rs3745969** mutasyonu (A>G) heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,03’tür. Bu değişim (Y220Y) sessiz bir değişim olup, aminoasit değişimi olarak yansımamaktadır, proteinin N-terminal bölgesinde (www.mutationassessor.org) etkilidir. Hastanın koroner arterlerinde LMCA tutulumu ve hipertansiyonu olan hastanın prolidaz düzeyi (191,02 ng/ml) hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE’de *PEPD*’in etkisini incelediğimizde, chr19:33953912’de lokalize olan rs3745969 A>G, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu**

hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif ve hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.

H57 kodlu 63 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde **benign** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Chr19:33882458'de lokalize yer alan yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Hastanın koroner arterlerinde LAD etkilenmesi mevcut olan hastadanın hipertansiyon ve hiperlipidemisi vardır. Hastanın prolidaz düzeyi (347,83 ng/ml) KAE hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek olup ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33904449'da lokalize olan rs146629261 C>A, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif ve hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H59 kodlu 46 yaşındaki **kadın** hastada, *PEPD* geninde chr19:34003712'de lokalize olan **rs45564539** intronik değişimi (C>T) heterozigot olarak yer alır. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon (MAF değeri 0,28) ve Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur (MAF değeri 0,26). Chr19:33882458'de lokalize yaygın olarak görülen intronik rs16968070 heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Bu hastanın LAD ve RCA olan koroner arterlerinde ektazi tutulumu, hiperlipidemisi olan hastanın prolidaz düzeyi (378,84 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubuna göre (415,76 ng/ml) oldukça düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19: 34003712'de lokalize olan rs45564539 C>T, mutasyonu serum prolidaz düzeyini**

düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.

H60 kodlu 46 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Hastada ayrıca Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hastada Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Chr19:33882458'de lokalize yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot olarak bulunmaktadır. MAF değeri 0,21'dir. Bu hastanın RCA olan koroner arterinde ektazi bulunmaktadır ve prolidaz düzeyi (360,91 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek fakat, kontrol grubuna göre (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19: 33904449'da lokalize olan rs146629261 C>A, mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H63 kodlu 80 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Hasta ayrıca Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Hasta Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) de heterozigot olarak (MAF değeri 0,26) ve Chr19:33882458'de lokalize olan yaygın olarak görülen intronik **rs16968070** heterozigot mutant olarak bulunmaktadır (MAF değeri 0,21). RCA olan koroner arterinde ektazi olan ve lenfosit ($4,9 \times 10^3/\mu\text{L}$) ile monosit ($1,2 \times 10^3/\mu\text{L}$) düzeyleri yüksek olan hastanın prolidaz düzeyi (207,77 ng/ml) ise hasta (292,66 ng/ml) grubu ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33904449'da**

lokalize olan rs146629261 mutasyonu (C>A), serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (lenfosit, monosit) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.

H66 kodlu 64 yaşındaki **erkek** hastanın, *PEPD* geninde chr19:33878846'da lokalize yer alan **rs149042427** mutasyonu (C>T) heterozigot olarak bulunur. Bu değişimde zararlı olarak tanımlanan (www.ensembl.org) A432T yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **orta** olarak tanımlanmıştır. Chr19:33902667'de lokalize olan intronik **rs375510790** çalışma grubunda sadece bu hasta görülmekte olup MAF değeri <0,01'dir. Hasta ayrıca Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Koroner arterlerinde LAD tutulumu olan hastanın prolidaz düzeyi (260,82 ng/ml) ise hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından göre (415,76 ng/ml)düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33878846'da lokalize olan rs149042427 C>T ve chr19:33902667'de lokalize olan intronik rs375510790 C>T mutasyonu serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H71 kodlu 77 yaşındaki **erkek** hastada, *PEPD* geninde chr19:33904449'da lokalize yer alan **rs146629261** mutasyonu (C>A) heterozigot olarak bulunur. Bu intronik değişimin MAF değeri 0,01'dir. Chr19:3387883'de lokalize olan ve her iki grupta da yaygın olarak görülen **rs17570** varyasyonu heterozigot mutant olarak bulunmaktadır. Bu değişimde benign olarak tanımlanan (www.ensembl.org) L435F yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. MAF değeri 0,28'dir. Chr19:33878198'de yer alan **rs1061338** yaygın görülen 3'UTR değişimi (A>G) heterozigot olarak bulunur. MAF değeri 0,26'dır. Chr19:33882458'de lokalize yer alan yaygın olarak görülen intronik rs16968070 heterozigot mutant olarak bulunmaktadır.

MAF değeri 0,21'dir. Bu hastanın RCA olan koroner arterinde ektazi, yüksek WBC($11 \times 10^3/\mu\text{L}$), nötrofil ($7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) ve monosit ($1,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) değerleri olan hastanın hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (288,19 ng/ml) olarak KAE hasta grubu (292,66 ng/ml) ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33904449'da lokalize olan rs146629261 mutasyonu (C>A), serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif ve hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (WBC, nötrofil, monosit) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.**

H74 kodlu 65 yaşındaki erkek hastada, *PEPD* geninde chr19:33882259'da lokalize olan **rs200183031** mutasyonu (G>A) mustasyonu çalışma grubunda **sadece bu hastada** heterozigot olarak bulunur. Bu değişimde **zararlı** olarak tanımlanan (www.ensembl.org) P365L yanlış anlamlı mutasyon görülmektedir. Bu mutasyonun fonksiyona olan etkisi (www.mutationassessor.org) **orta** olarak tanımlanmıştır ve N-terminal bölgesinde yer alır. MAF değeri <0,01'dir. CX koroner arterinde ektazi bulunan, WBC($10,5 \times 10^3/\mu\text{L}$) ve nötrofil($7,2 \times 10^3/\mu\text{L}$) değerleri yüksek olan hastanın hipertansiyon, hiperlipidemi ve diyabeti mevcuttur. Hastanın prolidaz düzeyi (380,57 ng/ml) olarak hasta grubu ortalamasından (292,66 ng/ml) yüksek iken ve kontrol grubu ortalamasından (415,76 ng/ml) düşük olarak gözlenmiştir. **KAE'de *PEPD*'in etkisini incelediğimizde, chr19:33882259'da lokalize olan rs200183031 mutasyonu (G>A), serum prolidaz düzeyini düşürerek KAE oluşumuna eğilim sağlayabilir. Bu hastada görüldüğü gibi, KAE hastalarında görülen hipertansif ve hiperlipidemik profile katkı sağlayıp, immün sistem hücreleri yüksekliğine (WBC, nötrofil) sebep olarak hastalığa eğilimi arttırabilir.**

PEPD geninde kontrol grubunda olmayıp KAE hastalarına spesifik olarak saptadığımız mutasyonları taşıyan hastalar yukarıdaki detaylı klinik ve biyokimyasal tanımlamalarında görüleceği gibi düşük serum prolidaz düzeylerine sahiptir. Bu sonuçlar düşük serum prolidaz düzeylerine neden olan *PEPD* gen mutasyonlarının KAE gelişimi için risk oluşturabileceğine işaret etmektedir. Ancak KAE hastalarında tespit ettiğimiz yaygın ve nadir mutasyonların etkilerini daha belirgin görmek için daha büyük çalışma gruplarında incelenmesi ve teyit edilmesi gereklidir.

Sonuç olarak, koroner arter ektazi patogenezinin anlaşılması, hastalığa yönelik tedavi stratejilerinin belirlenebilmesi için önemlidir. Çalışmamızda serum prolidaz düzeylerinin KAE hastalarında önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur. *PEPD* gen dizi analizi ile tespit edilen polimorfizm / mutasyonların bazıları da düşük prolidaz düzeyleri ile ilişkisi tespit edilmiştir. Hasta grubunda nadir gözlenen *PEPD* gen mutasyonlarının da genel olarak düşük prolidaz düzeyleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular prolidaz enziminin KAE tedavisinde potansiyel hedef olabileceğini düşünmekteyiz. Bu bağlamda prolidaz düzeylerini etkileyen *PEPD* gen varyasyon ve mutasyonlarının daha büyük çalışma gruplarında araştırılması da önem taşımaktadır. Hedef olarak; büyük ölçekli bir çalışmada KAE için risk oluşturabileceği gözlenen yaygın ve nadir *PEPD* geni varyasyonlarının yer aldığı bir panelde biyokimyasal ve klinik parametrelerle de birlikte irdeleyerek elde ettiğimiz bulguları teyit etmeyi/güçlendirmeyi planlamaktayız.

KAYNAKLAR

- Abou Sherif, S., Ozden Tok, O., Taskoylu, O., Goktekin, O., Kilic, ID. (2017). Coronary Artery Aneurysms: A Review of the Epidemiology, Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Front Cardiovasc Medicine*, 4:24.
- Adiloglu, A.K., Can, R, Nazli, C, Ocal, A., Ergene, O., Tinaz, G., Kisioglu, N. (2005). Ectasia and severe atherosclerosis: relationships with chlamydia pneumoniae, helicobacterpylori, and inflammatory markers. *Tex Heart Inst J*. 32:21–27.
- Aintablian, A., Hamby, R.I., Hoffman, I., Kramer, R.J. (1978). Coronary ectasia: incidence and results of coronary bypass surgery. *Am Heart Journal*, 96(3):309-315.
- Aktürk, E., Aşkın, L., Nacar, H., Taşolar, M.H., Türkmen, S., Çetin, M., Bozkurt, M. (2018). Association of serum prolidase activity in patients with isolated coronary artery ectasia. *Anatol J Cardiol*. 19(2):110-116. doi: 10.14744.
- Androulakis, A.E., Andrikopoulos, G.K., Kartalis, A.N., Stougiannos, P.N., Katsaros, A.A., Syrogiannidis, D.N. (2004). Relation of coronary artery ectasia to diabetes mellitus. *Am J Cardiology*, 93(9):1165-7.
- Antoniadis, A.P., Chatzizisis, Y.S., Giannoglou, G.D. (2008). Pathogenetic mechanisms of coronary ectasia. *Int J Cardiology*, 130(3):335-43.
- Ayhan, S.S., Ozturk, S., Erdem, A., Ozlu, M.F., Ozyasar, M., Erdem, K., et al. (2013). Relation of neutrophil/lymphocyte ratio with the presence and severity of coronary artery ectasia. *Turk Kardiyoloji Derneği Arsivi*, 41(3):185-90.
- Bakuy, V., Gursoy, M., Hokenek, F., Gedikbasi, A., Atay, M., Nurdag, A., Caglar, I.M., Ugurlucan, M., Akgul, A. (2014). Prolidase activity in patients with coronary artery aneurysm. *Angiology*. Aug; 65(7):574-9.
- Ball, S.P., Tongue, N., Gibaud, A., Le Pendu, J., Mollicone, R., Gérard, G., Oriol, R. (1991). The human chromosome 19 linkage group FUT1 (H), FUT2 (SE), LE, LU, PEPD, C3, APOC2, D19S7 and D19S9. *Ann Human Genetic*, 55(3):225-33.
- Barnes, M.J., Farndale, R.W. (1999). Collagens and atherosclerosis. *Exp Gerontology*, 34:513–525.

- Baspınar, S., Kırnap, M., Baspınar, O., Dizdar, O.S., Kocer, D. (2016). Serum prolidase level in ankylosing spondylitis: low serum levels as a new potential gold standard biomarker for disease activity. *Rheumatol Int.* 36(11):1609-1616. Epub 2016 Jul 21. PubMed PMID: 27443556.
- Bayram, M., Derin, M.E., Doğan, H.O., Asan, G., Şahin, M., Şahin, A. (2019). High Prolidase Levels in Patients with Familial Mediterranean Fever (FMF). *Rom J Intern Med.* pii: /j/rjim.ahead-of-print/rjim-2019-0025/rjim-2019-0025.xml. doi: 10.2478/rjim-2019-0025. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31846428.
- Baysal, S.S., Koç, Ş., Güneş, A., Altıparmak, I.H. (2018). Endothelium biomarkers endocan and thrombomodulin levels in isolated coronary artery ectasia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 22(14):4677-4682. doi: 10.26355/eurrev_201807_15528. PubMed PMID:30058709.
- Bhatnager, R., Dang, A.S. (2018). Comprehensive in-silico prediction of damage associated SNPs in Human Prolidase gene. *Scientific Reports.*
- Befeler, B., Aranda, M.J., Embi, A., Mullin, F.L., El-Sherif, N., Lazzara, R. (1977). Coronary artery aneurysms: study of the etiology, clinical course and effect on left ventricular function and prognosis. *Am J Medicine*, 62(4):597-607.
- Bergmann, M.L. Fruton, J.S. (1937) On proteolytic enzymes. XII. Regarding the specificity of aminopeptidase and carboxypeptidase. A new type of enzyme in the intestinal tract. *J Biol Chemistry*, 117:189.
- Bermudez, E.P., Palop, R.L., Martinez-Luengas, I.L., Sanchez, R.C., Saez, P.C., Carreras, R.R. et al. (2003). Coronary ectasia: prevalence, and clinical and angiographic characteristics. *Rev Esp Cardiology*, 56(5):473-479.
- Bissell, M.J., Aggeler, J. (1987). Dynamic reciprocity: how do extracellular matrix and hormones direct gene expression? *Prog Clin Biol Res*, 249:251-262.
- Bockelmann, W. (1995). The proteolytic system of starter and non-starter bacteria: Components and their importance for cheese ripening. *International Dairy Journal*, 5(8):977-994.
- Bonnans, C., Chou, J., Werb, Z. (2014). Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 15:786–801.

- Butterworth J., Priestman, D.A. (1985). Presence in human cells and tissues of two prolidases and their alteration in prolidase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 8(4):193–197.
- Campbell., R.D., Booth, N.A. & Fothergill, J.E. (1979). Purification and characterization of subcomponent C1q of the first component of bovine complement. *The Biochemical journal*, 177(2):531–540.
- Cechowska-Pasko, M., Pałka, J., Wojtukiewicz, M.Z. (2006). Enhanced prolidase activity and decreased collagen content in breast cancer tissue. *Int J Exp Pathology*, 87(4):289-96.
- Chaithiraphan, S., Goldberg, E., O'Reilly, M., Jootar, P. (1973). Multiple aneurysms of coronary artery in scleroderma heart disease. *Angiology*, 24(2):86-93.
- Chamson, A., Voigtländer, V., Myara, I., Frey, J. (1989). Collagen biosynthesis anomalies in prolidase deficiency: effect of glycyl-L-proline on the degradation of newly synthesized collagen. *Clinical Physiology Biochemistry*, 7(3-4):128-36.
- Chiu, J.J., Chien, S. (2011). Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol Review*, 91(1):327-387.
- Chugh, R., Perloff, J.K., Fishbein, M., Child, J.S. (2004). Extramural coronary arteries in adults with cyanotic congenital heart disease. *Am J Cardiology*. 94(10):1355-7.
- <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03896321> Erişim Tarihi:05.09.2019.
- Dahdah, N.S., Fournier, A., Jaeggi, E., van Doesburg, N.H., Lambert, R., Dionne, N., et al. (1999). Segmental myocardial contractility versus perfusion in Kawasaki disease with coronary arterial aneurysm. *Am J Cardiol*, 83(1):48-51.
- Dahhan, A. (2015). Coronary artery ectasia in atherosclerotic coronary artery disease, inflammatory disorders, and sickle cell disease. *Cardiovasc Ther.*, 33(2):79-88.
- Danesh, J., Lewington, S., Thompson, S.G., Lowe G.D., Collins R. et al (2005) Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 294:1799–1809.
- Daoud, A.S., Pankin, D., H. Tulgan, R.A. (1963). Florentin Aneurysms of the coronary artery. Report of ten cases and review of literature *Am J Cardiol*, 11:228-237.

Daugherty, A., Manning, M.W., Cassis, L.A. (2000). Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Invest.*, 105(11):1605-12.

Demir, M., Demir, C., Keceoglu, S. (2014). The Relationship Between Blood Monocyte Count and Coronary Artery Ectasia. *Cardiol Res.*, 5(5):151-4.

Demopoulos, V.P., Olympios, C.D., Fakiolas, C.N., Pissimissis, E.G., Economides, N.M., Adamopoulou, E. et al. (1997). The natural history of aneurysmal coronary artery disease. *Heart*, 78(2):136-141.

Der Kaloustian, V. M., Freij, B. J., Kurban, A. K. (1982). Prolidase deficiency: an inborn error of metabolism with major dermatological manifestations. *Dermatologica*, 164:293-304.

Devabhaktuni, S., Mercedes, A., Diep, J., Ahsan, C. (2016). Coronary Artery Ectasia-A Review of Current Literature. *Curr. Cardiol. Review*, 12(4):318-323.

Díaz-Zamudio, M., Bacilio-Pérez, U., Herrera-Zarza, M.C., Meave-González, A., Alexanderson-Rosas, E., Zambrana-Balta, G.F. et al. (2009). Coronary artery aneurysms and ectasia: role of coronary CT angiography. *RadioGraphics*. 29(7):1939-1954.

Ekmekçi, A., Ozcan, K.S., Abaci, N., Güngör, B., Osmonov, D., Tosu, R., Toprak, E., Güleç, C., Ustek, D., Oz, D., Eren, M. (2013). The relationship between coronary artery ectasia and eNOS intron 4a/b gene polymorphisms. *Acta Cardiol*. 68(1):19-22.

<https://www.elabsience.com/PDF/Cate61/E-EL-H5575-Elabsience.pdf> Erişim Tarihi: 05.10.2018.

https://emea.support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/nextera_xt_dna_kit/documentation.html?langsel=/tr/ Erişim Tarihi: 05.01.2019.

Emmerson, K.S., Phang, J.M. (1993). Hydrolysis of proline dipeptides completely fulfills the proline requirement in a proline-auxotrophic Chinese hamster ovary cell line. *J Nutr.*, 123(5):909-14.

www.ensembl.org Erişim Tarihi: 08.08.2019

Endo, F., Matsuda, I., Ogata, A., Tanaka, S. (1982). Human erythrocyte prolidase and prolidase deficiency. *Pediatr Res.*, 16(3):227-31.

- Endo, F.A., Matsuda, I. (1991). Molecular basis of prolidase (peptidase D) deficiency. *Mol Biology and Medicine*, 8:117–127.
- Endo, F., Tanoue, A., Nakai, H., Hata, A., Indo, Y., Titani, K., Matsuda, I. (1989). Primary structure and gene localization of human prolidase. *J Biol Chemistry*, 264(8):4476–4481.
- England, J.F., (1981). Herbicides and coronary ectasia. *Med J Aust.*, 1(3):140.
- Erden, I., Erden, E.C., Ozhan, H., Karabulut, A., Ordu, S., Yazici, M., (2010). Outcome of primary percutaneous intervention in patients with infarct-related coronary artery ectasia. *Angiology*, 61(6):574-579.
- Falik-Zaccai, T. C., Khayat, M., Luder, A., Frenkel, P., Magen, D., Brik, R., Gershoni-Baruch, R., Mandel, H. (2010). A broad spectrum of developmental delay in a large cohort of prolidase deficiency patients demonstrates marked interfamilial and intrafamilial phenotypic variability. *Am. J. Med. Genet.*, 153B: 46-56.
- Folsom, A.R., Aleksic, N., Ahn, C., Boerwinkle, E., Wu, K.K. (2001). Beta-fibrinogen gene -455G/A polymorphism and coronary heart disease incidence:the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Ann Epidemiol.* 11(3):166-70.
- Freneau, Jr. R.T., Caron M.G., Blakely, R.D. (1992). Molecular cloning and expression of a high affinity l-proline transporter expressed in putative glutamatergic pathways of rat brain. *Neuron*, 8(5):915-926.
- Galicka, A., Wolczyński, S., Anchim, T., Surazyński, A., Lesniewicz, R., Palka, J. (2001). Defects of type I procollagen metabolism correlated with decrease of prolidase activity in a case of lethal osteogenesis imperfecta. *Eur J Biochemistry.*, 268(7):2172-8.
- Gao, M., Cheng, Y., Zheng, Y., Zhang, W., Wang, L., Qin, L. (2017). Association of serum transaminases with short- and long-term outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord.* Jan 28;17(1):43.
- Gavish, L., Beerli, R., Gilon, D., Rubinstein, C., Berlatzky, Y., Gavish, L.Y. et al. (2014). Inadequate reinforcement of transmedial disruptions at branch points subtends aortic aneurysm formation in apolipoprotein-E-deficient mice. *Cardiovasc Pathology*, 23(3):152-9.

- Ge, J., Erbel, R., Zamorano, J., Koch, L., Kearney, P., ve ark . (1993) Coronary artery remodelling in atherosclerotic disease: An intravascular ultrasonic study in vivo. *Coron Artery Dis*, 4:981-986.
- Gelse, K., Pöschl, E., Aigner, T. (2003). Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Review*, 55(12):1531-46.
- Genda, A., Nakayama, A., Shimizu, M., Nunoda, S., Sugihara, N., Suematzu, T. et al. (1987). Coronary angiographic characteristics in Japanese patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 66(1-2):29-36.
- Gertz, S.D., Gavish, L., Mintz, Y., Beer, R., Rubinstein, C., Gavish, L.Y. et al. (2015). Contradictory effects of hypercholesterolemia and diabetes mellitus on the progression of abdominal aortic aneurysm. *Am J Cardiology*, 115(3):399-401.
- ghr.nlm.nih.gov/gene/PEPD (Erişim Tarihi:12.09.2019)
- Gulec, S., Aras, O., Atmaca, Y., Akyurek, O., Hanson, N.Q., Sayin, T. et al. (2003). Deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is a potent risk factor for coronary artery ectasia. *Heart*, 89(2):213-4.
- Harada, H., Yamamoto, N., Ueda, M., Abe, T. (1997). A clinical investigation of Bentall's operation for annuloaortic ectasia in the elderly. *Kyobu Geka*, 50(8):632-6.
- Hartnell, G.G., Parnell, B.M., Pridie, R.B., (1985). Coronary artery ectasia. Its prevalence and clinical significance in 4993 patients. *Br Heart Journal*, 54(4):392-5.
- Harvey, R.A., Ferrier, D. R. (2015). *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry* (5th ed.) North America. (4)43-44.
- Huang, Q.J., Liu, J., Chen, M.H., Li, J.J. (2014). Relation of diabetes to coronary artery ectasia: A meta-analysis study. *Anadolu Kardiyol Dergisi*, 14(4):322-7.
- Hsu, P.C., Wang, C.L., Su, H.M., Juo, S.H., Lin, T.H., Voon, W.C., et al. (2014). The hOGG1 Ser326Cys gene polymorphism and the risk of coronary ectasia in the Chinese population. *Int J Mol Science*, 15(1):1671-82.
- İçli, A., Altınbaş, A.(2013). Beta Fibrinogen -455 G>A Gene Polymorphism in Coronary Artery Ectasia. JACC Vol 62/18/Suppl C j October 26–29, 2013 j TSC Abstracts/Orals.

Jackson, S.H., Heininger, J.A. (1975). Proline recycling during collagen metabolism as determined by concurrent ^{18}O - and ^3H -labeling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 381(2):359–367.

Joviliano, E.E., Ribeiro, M.S., Tenorio, E.JR. (2017). MicroRNAs and Current Concepts on the Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm. *Braz J Cardiovasc Surgery*, 32(3):215-224.

Kannel, W.B., Wolf, P.A., Castelli, W.P. (1987). D'Agostino R.B. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA*. 4;258(9):1183-6.

Karna, E., Mityk, W., Palka, J.A. (2006). Butyrate-induced collagen biosynthesis in cultured fibroblasts is independent on $\alpha 2\beta 1$ integrin signalling and undergoes through IGF-I receptor cascade. *Mol Cell Biochemistry*, 286:147–152

Keser, A., Ozbek, K., Ulucan, S., Katlandur, H., Bilgi, M., Ozdil, H. (2016). Relationship between red cell distribution width levels and severity of coronary artery ectasia. *Eur Rev Med Pharmacol Science*, 20(8):1571-4.

Kılıcarslan O. (2019). Aterosklerotik Koroner Arter Ektazi Hastalarında Lizil Oksidaz Fonksiyonel Gen Varyasyonlarının İnflamatuar Sitokin Paneli İle Birlikte Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi, Uzmanlık Tezi; Kardiyoloji Enstitüsü, İstanbul.

King, G.F., Kuchel, P.W. (1984). A proton n.m.r. study of iminodipeptide transport and hydrolysis in the human erythrocyte. Possible physiological roles for the coupled system. *The Biochemical Journal*, 220(2):553-60 .

Kitchener, R.L., Grunden, A.M. (2012). Prolidase function in proline metabolism and its medical and biotechnological applications. *J Appl Microbiology*, 113(2):233-47.

Kolset, S.O., Reinholt, F.P., Jenssen, T. (2012). Diabetic nephropathy and extracellular matrix. *J Histochem Cytochemistry*. 60(12):976-86.

Krishnamoorthi, J., Ramasamy, P., Shanmugam, V., Shanmugam, A. (2017). Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of *Sepia pharaonis* (Ehrenberg, 1831) from Puducherry coast. *Biochem Biophys Rep.*, 10:39-45.

- Kruger, D., Stierle, U., Herrmann, G., Simon, R., Sheikhzadeh A. (1999). Exercise-induced myocardial ischemia in isolated coronary artery ectasias and aneurysms ("dilated coronopathy") *J Am Coll Cardiology*, 34(5):1461-1470.
- Kundi, H., Gok, M., Kiziltunc, E., Cetin, M., Cicekcioglu, H., Cetin, Z.G., et al. (2015). Relation Between Monocyte to High-Density Lipoprotein Cholesterol Ratio With Presence and Severity of Isolated Coronary Artery Ectasia. *Am J Cardiology*, 116(11):1685-9.
- Kundi, H., Gok, M., Cetin, M., Kiziltunc, E., Cicekcioglu, H., Guven Cetin, Z., et al. (2016). Relationship between platelet-to-lymphocyte ratio and the presence and severity of coronary artery ectasia. *Anatol J Cardiology*, 16(11):857-62
- Kurien, B.T., Patel, N.C., Porter, A.C., D'Souza, A., Miller, D., Matsumoto, H., Wang, H., Scofield, R.H. (2005). Prolidase deficiency and the biochemical assays used in its diagnosis. *Anal Biochemistry*, 349(2):165-75.
- Li, J.J., Li, Z., Li, J. (2007). Is any link between inflammation and coronary artery ectasia? *Medicine Hypotheses*, 69(3):678-683.
- Li, J.J., Nie, S.P., Qian, X.W., Zeng, H.S., Zhang, C.Y. (2009). Chronic inflammatory status in patients with coronary artery ectasia. *Cytokine*, 46:61–64.
- Li, J.J. (2011). Inflammation in coronary artery diseases. *Chin. Medicine Jornal (Engl)*., 124(21):3568-75.
- Li, P., Wu, G. (2018). Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids*, 50(1):29-38.
- Libby, P. (2002). Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420(6917):868-74.
- Lillvis, J.H., Kyo, Y., Tromp, G., Lenk, G.M., Li, M., Lu, Q., Igo, R.P. Jr, Sakalihasan, N., Ferrell, R.E., Schworer, C.M., Gatalica, Z., Land, S., Kuivaniemi, H. (2011). Analysis of positional candidate genes in the AAA1 susceptibility locus for abdominal aortic aneurysms on chromosome 19. *BMC Med Genet.*, 19,12:14.
- Liu, R., Chen, L., Wu, W., Chen, H., & Zhang, S. (2016). Extracellular matrix turnover in coronary artery ectasia patients. *Heart and Vessels*, 31,351-359.

- Lupi, A., Tenni, R., Rossi, A., Cetta, G., Forlino, A. (2008). Human prolidase and prolidase deficiency: an overview on the characterization of the enzyme involved in proline recycling and on the effects of its mutations. *Amino Acids*, 35:739-752.
- Lu, T.P., Chuang, N.C., Cheng, C.Y., Hsu, C.A., Wang, Y.C., Lin, Y.H., et al. (2017). Genomewide methylation profiles in coronary artery ectasia. *Clin Sci (Lond)*. 131(7):583-94.
- Mabuchi, H., Michishita, I., Sakai, Y., Sakai, T., Ikawa, T., Genda, A., et al. (1986). Coronary ectasia in a homozygous patient with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 59(1):43-6.
- Mäki, J.M., Räsänen, J., Tikkanen, H., Sormunen R., Mäkilä, K., Kivirikko, K.I., Soininen, R. (2002). Inactivation of the lysyl oxidase gene *Lox* leads to aortic aneurysms, cardiovascular dysfunction, and perinatal death in mice. *Circulation*. 106(19):2503-9.
- Manginas, A., Cokkinos D.V. (2006). Coronary artery ectasias: imaging, functional assessment and clinical implications. *Eur Heart Journal*, 27(9):1026-1031.
- Markis, J.E., Joffe, C.D., Cohn, P.F., Feen, D.J., Herman, M.V., Gorlin, R. (1976). Clinical significance of coronary arterial ectasia. *Am J Cardiology*, 37(2):217-222.
- Matayoshi, A.H., Dhond, M.R., Laslett, L.J. (1999). Multiple coronary aneurysms in a case of systemic lupus erythematosus. *Chest*, 116(4):1116-8.
- Miltyk, W., Palka, J.A. (2000). Potential role of pyrroline 5-carboxylate in regulation of collagen biosynthesis in cultured human skin fibroblasts. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiology*, 125(2):265-71.
- Mittal, S., Song, X., Vig, B.S., Landowski, C.P., Kim, I., Hilfinger, J.M., Amidon, G.L. (2005). Prolidase, a potential enzyme target for melanoma: design of proline-containing dipeptide-like prodrugs. *Mol Pharm.*, 2(1):37-46.
- Mittal, S., Song, X., Vig, B.S., Amidon, G.L. (2007). Proline prodrug of melphalan targeted to prolidase, a prodrug activating enzyme overexpressed in melanoma. *Pharm Res.*, 24(7):1290-8.

Myara, I., Myara, A., Mangeot, M., Fabre, M., Charpentier, C., Lemonnier, A. (1984). Plasma prolidase activity: a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chemistry*, 30(2):211-5.

Myara, I. (1987). Effect of long preincubation on the two forms of human erythrocyte prolidase. *Clin Chim Acta*. 170(2-3):263-270.

www.mutationassessor.org Erişim Tarihi: 05.09.2019.

Myara, I., Cosson, C., Moatti, N., Lemonnier, A. (1994). Human kidney prolidase purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int J Biochemistry*, 26,207-214.

Nakashima, Y., Wight, T.N., Sueishi, K. (2008). Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans. *Cardiovasc Res*. 2008 Jul 1;79(1):14-23. doi: 10.1093/cvr/cvn099. Epub 2008 Apr 22. Review. PubMed PMID: 18430750.

ncbi.nlm.nih.gov/gene/5184 (Erişim Tarihi:12.09.2019)

Noma, M., Kikuchi, Y., Yoshimura, H., Yamamoto, H., Tajimi, T. (1993). Coronary ectasia in Takayasu's arteritis. *Am Heart Journal*, 126(2):459-61.

O'Brien, D.T., Ball, S., Sarfarazi, M., Harper, P. S., Robson, E. B. (1983) *Annu. Hum. Genet.* 47, 117-122.

Orr, A.W., Sanders, J.M., Bevard, M., Coleman, E., Sarembock, I.J., Schwartz, MA. (2005). The subendothelial extracellular matrix modulates NF-kappaB activation by flow: a potential role in atherosclerosis. *J Cell Biology*, 169,191-202.

Ozbay, Y., Akbulut, M., Balin, M., Kayancicek, H., Baydas, A., Korkmaz, H. (2007).The level of hs-CRP in coronary artery ectasia and its response to statin and angiotensin converting enzyme inhibitor treatment. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:89649.

Ozbek, S., Balasubramanian, P.G., Chiquet-Ehrismann, R., Tucker, R.P. (2010). Adams, J.C. The evolution of extracellular matrix. *Molecular Biology of The Cell*, 21,4300-4305.

Ozturk, S., Yetkin, E., Waltenberger, J. (2018). Molecular and cellular insights into the pathogenesis of coronary artery ectasia. *Cardiovascular Pathology*, 35, 37-47.

- Özcan, Ö., Gültepe, M., İpçioğlu, O.M., Bolat, B., Kayadibi, H. (2007). Prolidazın Mutlak Aktivitesini Değerlendirmede Fotometrik Enzim Aktivitesi Ölçüm Metodunun Optimizasyonu. *Türk Biyokimya Dergisi (Turkish Journal of Biochemistry–Turk J. Biochem.)*, 32(1):12–16.
- Pahlavan, P.S., Niroomand, F. (2006). Coronary artery aneurysm: a review. *Clin Cardiololgy*, 29(10):439-43.
- Palka, J.A., (1996). The role of prolidase as an enzyme participating in the metabolism of collagen. *Rocz Akad Med Bialymst.*, 41(2):149-60.
- Palka, J., Mityk, W., Karna, E., Wolczynski, S. (1996). Modulation of prolidase activity during in vitro aging of human skin fibroblasts the role of extracellular matrix collagen. *Tokai Exp Clin Medicine*, 21,207–213.
- Palka, J.A., Phang, J.M. (1997). Prolidase activity in fibroblasts is regulated by interaction of extracellular matrix with cell surface integrin receptors. *J Cell Biochemistry*, 67(2):166-75.
- Phang, J. M., Liu, W. & Zabirnyk, O. (2010). Proline metabolism and microenvironmental stress. *Annu Rev Nutr.* 30, 441–463.
- Pola, R., Gaetani, E., Santoliquido, A., Gerardino, L., Cattani, P., Serricchio, M., et al. (2001). Abdominal aortic aneurysm in normotensive patients: association with angiotensin converting enzyme gene polymorphism. *Eur J Vasc Endovasc Surgery*, 21(5):445-9.
- Popper, H., Piez, K.A. (1978). Collagen metabolism in the liver. *Digest Dis* 23, 641-659.
- Powell, G. F., Rasco, M. A., Maniscalco, R. M. (1974). A prolidase deficiency in man with iminopeptiduria. *Metabolism*, 23: 505-513.
- Rauterberg, J., Voss, B., Pott, G., Gerlach, U. (1981). Connective tissue components of the normal and fibrotic liver. *Kim Wochenschr* 59, 767-779.
- Ricard-Blum, S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harb Perspect Biology*, 3(1):a004978. doi: 10.1101/cshperspect.a004978.

Richter, A.M., Lancaster, G.L., Choy, F.Y., Hechtman, P. (1989). Purification and characterization of activated human erythrocyte prolidase. *Biochem Cell Biology*, 67(1):34-41.

Roberts, W.C. (2011). Natural history, clinical consequences, and morphologic features of coronary arterial aneurysms in adults. *Am J Cardiol*. 108(6): 814-21.

Royce, P.M., Steinmann, B. (2002). Prolidase Deficiency. *Connective Tissue and Its Heritable Disorders: Molecular, Genetic and Medical Aspects*, 2nd edn. New York Wiley-Liss, Inc, Chapter 16.

Satran A, Bart BA, Henry CR, Murad MB, Talukdar S, Satran D, et al. (2005). Increased prevalence of coronary artery aneurysms among cocaine users. *Circulation*. 111(19):2424-9.

Ser Ö.S. (2018). Aterosklerotik Koroner Arter Ektazi Hastalarında Tgfbeta Geninde Yer Alan Fonksiyonel Varyasyonların Klinik Fenotiple İlişkilerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi, Uzmanlık Tezi; Kardiyoloji Enstitüsü, İstanbul.

Sharma, S.N., Kaul, U., Sharma, S., Wasir, H.S., Manchanda, S.C., Bahl, V.JK. et al. (1990). Coronary arteriographic profile in young and old Indian patients with ischaemic heart disease: a comparative study. *Indian Heart Journal*, 42 (5) 365-369.

Shoulders, M.D., Raines, R.T. (2009). Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem*. 78: 929-958.

(https://software.broadinstitute.org/software/igv/sequence_track_options)

Stratman, A.N., Davis, G.E. (2012). Endothelial cell-pericyte interactions stimulate basement membrane matrix assembly: influence on vascular tube remodeling, maturation, and stabilization. *Microsc Microanal.*, 18,68–80.

Sudhir, K., Ports, T.A., Amidon, T.M., Goldberger, J.J., Bhushan, V., Kane, J.P., et al. (1995). Increased prevalence of coronary ectasia in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation*, 91(5):1375-80.

Sukhova, G.K., Shi, G.P., Simon, D.I., Chapman, H.A., Libby, P. (1998). Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest.*, 102,576–583.

- Surazynski, A., Miltyk, W., Palka, J., Phang, J.M. (2008-a). Prolidase-dependent regulation of collagen biosynthesis. *Amino Acids*. 35,731–738.
- Surazynski, A., Donald, S.P., Cooper, S.K., Whiteside, M.A., Salnikow, K., Liu, Y., Phang, J.M. (2008-b). Extracellular matrix and HIF-1 signaling: the role of prolidase. *Int J Cancer*. Mar 15;122(6):1435-40. PubMed PMID: 17999410.
- Swaye, P.S., Fisher, L.D., Litwin, P., Vignola, P.A., Judkins, M.P., Kemp, H.G., Mudd, J.G., Gosselin, A.J. (1983). Aneurysmal coronary artery disease. *Circulation*, 67(1):134-8.
- Takahashi, K., Oharaseki, T., Yokouchi, Y. (2018). Histopathological aspects of cardiovascular lesions in Kawasaki disease. *Int J Rheum Dis.*, 21(1):31-5.
- Taki, A., Kermani, A., Ranjbarnavazi, S.M., Pourmodheji. (2017). Overview of Different Medical Imaging Techniques for the Identification of Coronary Atherosclerotic Plaques. *Computing and Visualization for Intravascular Imaging and Computer Assisted Stenting*. 79-106.
- Tanoue, A., Endo, F., Matsuda, I. (1990) Structural organization of the gene for human prolidase (peptidase D) and demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolidase deficiency. *J Biol Chemistry*, 265,11306–11311.
- Thomas, A., Lamlum, H., Humphries, S., Green, F. (1994). Linkage disequilibrium across the fibrinogen locus as shown by five genetic polymorphisms, G/A–455 (HAEIII), C/T148 (HindIII/AluI), T/G+1689 (AvaIII), and BclII (β -Fibrinogen) and TaqI (α -Fibrinogen), and their detection by PCR Human Mutation., 3: 79-81.
- Thompson, G.R., Myant, N.B., Kilpatrick, D., Oakley, C.M., Raphael, M.J., Steiner R.E. (1980). Assessment of long-term plasma exchange for familial hypercholesterolaemia. *Br Heart Journal*, 43(6):680-8.
- Tosu, A.R., Cinar, T., Guler, A., Kahraman, S., Gurbak, I. The usefulness of monocyte to high density lipoprotein cholesterol ratio in prediction for coronary artery ectasia *Turk J Clin Lab* 2019; 1:68-73.
- Turhan, H., Erbay, A.R., Yasar A.S., Aksoy, Y., Bicer, A., Yetkin, G., et al. (2005). Plasma soluble adhesion molecules; intercellular adhesion molecule-1, vascular cell

adhesion molecule-1 and E-selectin levels in patients with isolated coronary artery ectasia. *Coron Artery Dis*, 16:45–50

<http://tustime.com/tr/tus-kaynaklari/infotus/biyokimya.html> Erişim Tarihi: 20.11.2019

uniprot.org/uniprot/P12955 Erişim Tarihi: 17.09.2019

Uramatsu, S., Liu, G., Yang, Q. ve ark. (2009). Characterization of prolidase I and II purified from normal human erythrocytes: comparison with prolidase in erythrocytes from a patient with prolidase deficiency. *Amino Acids* 37 (3):543–551.

Uyarel, H., Okmen, E., Tartan, Z., Kasikcioglu, H., Dayi, S.U., Karabulut A, et al. (2005). The role of angiotensin converting enzyme genotype in coronary artery ectasia. *Int Heart Journal*, 46(1):89-96.

Vanhoof, G., Goossens, F., De Meester, I., Hendriks, D., Scharpé, S. (1995). Proline motifs in peptides and their biological processing. *FASEB J*. 9(9):736-44.

Varol, E., Uysal, B.A., Dogan, A., Ozaydin, M., Erdogan, D. (2012). Mean platelet volume has a prognostic value in patients with coronary artery ectasia. *Clin Appl Thromb Hemost*. 18(4):387-92.

<https://varsome.com/gene/PEPD> Erişim Tarihi: 10.10.2019

Viglio, S. et al. (2006) The role of emerging techniques in the investigation of prolidase deficiency: from diagnosis to the development of a possible therapeutical approach. *Journal of Chromatography B*. 832, 1–8.

Virmani, R., Robinowitz, M., Atkinson, J.B., Forman, M.B., Silver, M.D., McAllister, H.A. (1986). Acquired coronary arterial aneurysms: an autopsy study of 52 patients. *Hum Pathology*, 17(6):575-83.

Yalcin, A.A., Faruk Akturk I, Celik O, Erturk M, Sabri Hancer V, Yalcin B, et al. Coronary artery ectasia is associated with the c.894G>T (Glu298Asp) polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Tohoku J Exp Med*. 2014;232(2):137-44.

Yamazaki, C.M., Kadoya, Y., Hozumi, K., Okano-Kosugi, H., Asada, S., Kitagawa, K., Nomizu, M., Koide, T.A. (2010). Collagen-mimetic triple helical supramolecule that evokes integrin-dependent cell responses. *Biomaterials*. 31(7):1925-34.

Yaron A, Naider F. (1993). Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol.*28(1):31-81.

Yetkin, E., Waltenberger J. (2007).Novel insights into an old controversy: is coronary artery ectasia a variant of coronary atherosclerosis? *Clin Res Cardiol*, 96 (6) 331-339.

Yurdagul Jr, A., Finney, A.C., Woolard, M.D., Orr, A.W. (2016). The arterial micro environment: the where and why of atherosclerosis. *Biochemical Journal.* 473(10): 1281-1295.

Zhou, X., Beck, C., Boren, J., Akyürek, L.M. (2005). Diverse origin of vascular smooth muscle cells in the neointima. *Anadolu Kardiyol Derg.* Sep;5(3):216-20.

Wang Y, Wang Y, Yin D, Dou K, Wu Y, Song W. The beneficial effects of renin-angiotensin system blockades on 2 year outcomes in coronary artery ectasia patients. *Curr Med Res Opin.* 2017:1-8.

Whang, S.H., Zhi, Q.W., Sun, M.J. (2006). Dual activities of human prolidase. *Toxicol In Vitro.* 20: 71-77.

HAM VERILER

Crosstab

			1 erkek o kadın		Total
			0	1	
1 hasta 0 kontrol	0	Count	29	47	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	38,2%	61,8%	100,0%
	1	Count	22	54	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	28,9%	71,1%	100,0%
Total		Count	51	101	152
		% within 1 hasta 0 kontrol	33,6%	66,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,446 ^a	1	,229	
Continuity Correction ^b	1,062	1	,303	
Likelihood Ratio	1,449	1	,229	
Fisher's Exact Test				,303
N of Valid Cases	152			

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	
Continuity Correction ^b	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	,151
N of Valid Cases	

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 25,50.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	1,515	,769	2,984
For cohort 1 erkek o kadın = 0	1,318	,837	2,075
For cohort 1 erkek o kadın = 1	,870	,693	1,093
N of Valid Cases	152		

Crosstab

			CX		
				yok	var
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76	0	0
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%	0,0%	0,0%
	1	Count	0	46	30
		% within 1 hasta 0 kontrol	0,0%	60,5%	39,5%
Total		Count	76	46	30
		% within 1 hasta 0 kontrol	50,0%	30,3%	19,7%

Crosstab

			Total
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
	1	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
Total		Count	152
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	152,000 ^a	2	,000
Likelihood Ratio	210,717	2	,000
N of Valid Cases	152		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 15,00.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	^a

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.

Crosstab

			RCA		
				yok	var
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76	0	0
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%	0,0%	0,0%
	1	Count	0	31	45
		% within 1 hasta 0 kontrol	0,0%	40,8%	59,2%
Total		Count	76	31	45
		% within 1 hasta 0 kontrol	50,0%	20,4%	29,6%

Crosstab

			Total
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
	1	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
Total		Count	152
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	152,000 ^a	2	,000
Likelihood Ratio	210,717	2	,000
N of Valid Cases	152		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 15,50.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	^a

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.

Crosstab

			LAD		
				yok	var
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76	0	0
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%	0,0%	0,0%
	1	Count	0	45	31
		% within 1 hasta 0 kontrol	0,0%	59,2%	40,8%
Total		Count	76	45	31
		% within 1 hasta 0 kontrol	50,0%	29,6%	20,4%

Crosstab

			Total
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
	1	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
Total		Count	152
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	152,000 ^a	2	,000
Likelihood Ratio	210,717	2	,000
N of Valid Cases	152		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 15,50.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	^a

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.

Crosstab

			LMCA		
				yok	var
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76	0	0
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%	0,0%	0,0%
	1	Count	0	68	8
		% within 1 hasta 0 kontrol	0,0%	89,5%	10,5%
Total		Count	76	68	8
		% within 1 hasta 0 kontrol	50,0%	44,7%	5,3%

Crosstab

			Total
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
	1	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
Total		Count	152
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	152,000 ^a	2	,000
Likelihood Ratio	210,717	2	,000
N of Valid Cases	152		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,00.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	^a

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.

Crosstab

			damaretkilenmesi		Total
			tekdamar	çokdamar	
1 hasta 0 kontrol	1	Count	45	31	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	59,2%	40,8%	100,0%
Total		Count	45	31	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	59,2%	40,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. ^a
N of Valid Cases	76

a. No statistics are computed because 1 hasta 0 kontrol is a constant.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (1 / .)	. ^a

a. No statistics are computed because 1 hasta 0 kontrol is a constant.

Crosstab

			Hipertansiyon		Total
			0	1	
1 hasta 0 kontrol	0	Count	50	26	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	65,8%	34,2%	100,0%
	1	Count	33	43	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	43,4%	56,6%	100,0%
Total	Count		83	69	152
	% within 1 hasta 0 kontrol		54,6%	45,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	7,670 ^a	1	,006
Continuity Correction ^b	6,794	1	,009
Likelihood Ratio	7,739	1	,005
Fisher's Exact Test			
Linear-by-Linear Association	7,620	1	,006
N of Valid Cases	152		

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square		
Continuity Correction ^b		
Likelihood Ratio		
Fisher's Exact Test	,009	,004
Linear-by-Linear Association		
N of Valid Cases		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 34,50.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	2,506	1,300	4,829
For cohort Hipertansiyon = 0	1,515	1,118	2,053
For cohort Hipertansiyon = 1	,605	,418	,874
N of Valid Cases	152		

Crosstab

			Diabet		Total
			0	1	
1 hasta 0 kontrol	0	Count	60	16	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	78,9%	21,1%	100,0%
	1	Count	50	26	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	65,8%	34,2%	100,0%
Total	Count		110	42	152
	% within 1 hasta 0 kontrol		72,4%	27,6%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,290 ^a	1	,070
Continuity Correction ^b	2,665	1	,103
Likelihood Ratio	3,314	1	,069
Fisher's Exact Test			
Linear-by-Linear Association	3,268	1	,071
N of Valid Cases	152		

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square		
Continuity Correction ^b		
Likelihood Ratio		
Fisher's Exact Test	,102	,051
Linear-by-Linear Association		
N of Valid Cases		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 21,00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	1,950	,942	4,035
For cohort Diabet = 0	1,200	,983	1,465
For cohort Diabet = 1	,615	,360	1,051
N of Valid Cases	152		

Crosstab

			Hiperlipidemi		Total
			0	1	
1 hasta 0 kontrol	0	Count	54	22	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	71,1%	28,9%	100,0%
	1	Count	32	44	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	42,1%	57,9%	100,0%
Total	Count		86	66	152
	% within 1 hasta 0 kontrol		56,6%	43,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	12,961 ^a	1	,000
Continuity Correction ^b	11,810	1	,001
Likelihood Ratio	13,167	1	,000
Fisher's Exact Test			
Linear-by-Linear Association	12,876	1	,000
N of Valid Cases	152		

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square		
Continuity Correction ^b		
Likelihood Ratio		
Fisher's Exact Test	,001	,000
Linear-by-Linear Association		
N of Valid Cases		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 33,00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	3,375	1,722	6,616
For cohort Hiperlipidemi = 0	1,688	1,250	2,278
For cohort Hiperlipidemi = 1	,500	,335	,747
N of Valid Cases	152		

Crosstab

			GA rs17570		
			GG	AA	GA
1 hasta 0 kontrol	0	Count	54	2	20
		% within 1 hasta 0 kontrol	71,1%	2,6%	26,3%
	1	Count	52	4	20
		% within 1 hasta 0 kontrol	68,4%	5,3%	26,3%
Total	Count		106	6	40
	% within 1 hasta 0 kontrol		69,7%	3,9%	26,3%

Crosstab

			Total
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
	1	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
Total	Count		152
	% within 1 hasta 0 kontrol		100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,704 ^a	2	,703
Likelihood Ratio	,717	2	,699
Linear-by-Linear Association	,034	1	,854
N of Valid Cases	152		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,00.

Risk Estimate

	Value
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	^a

a. Risk Estimate statistics cannot be computed. They are only computed for a 2*2 table without empty cells.

Crosstab

			mutant allele rs17570	
			normal homozigot GG rs17570	mutant A allele rs17570
1 hasta 0 kontrol	0	Count	54	22
		% within 1 hasta 0 kontrol	71,1%	28,9%
	1	Count	48	28
		% within 1 hasta 0 kontrol	63,2%	36,8%
Total		Count	102	50
		% within 1 hasta 0 kontrol	67,1%	32,9%

Crosstab

			Total
1 hasta 0 kontrol	0	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
	1	Count	76
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%
Total		Count	152
		% within 1 hasta 0 kontrol	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,073 ^a	1	,300
Continuity Correction ^b	,745	1	,388
Likelihood Ratio	1,075	1	,300
Fisher's Exact Test			
Linear-by-Linear Association	1,066	1	,302
N of Valid Cases	152		

Chi-Square Tests

	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square		
Continuity Correction ^b		
Likelihood Ratio		
Fisher's Exact Test	,388	,194
Linear-by-Linear Association		
N of Valid Cases		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 25,00.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for 1 hasta 0 kontrol (0 / 1)	1,432	,725	2,827
For cohort mutant allele rs17570 = normal homozigot GG rs17570	1,125	,899	1,407
For cohort mutant allele rs17570 = mutant A allele rs17570	,786	,496	1,243
N of Valid Cases	152		

Group Statistics

1 hasta 0 kontrol		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
PEPD düzeyi	0	75	415,7605	210,77061	24,33769
	1	75	292,6679	81,38020	9,39698
Glukoz	0	76	110,07	40,628	4,660
	1	76	117,63	41,989	4,816
HbA1c	0	76	6,00	,872	,100
	1	76	6,33	,921	,106
TKolesterol	0	76	187,89	47,839	5,488
	1	76	182,22	43,107	4,945
HDL	0	76	48,78	11,469	1,316
	1	76	44,30	11,915	1,367
LDL	0	76	131,50	42,303	4,852
	1	76	126,80	41,407	4,750
Trig	0	76	135,99	68,510	7,859
	1	76	162,41	92,857	10,651
ALT	0	76	22,32	11,267	1,292
	1	76	29,72	26,507	3,041
AST	0	76	20,68	7,248	,831
	1	76	25,17	16,871	1,935
BUN	0	76	16,09	4,733	,543
	1	76	16,32	4,916	,564
Kreatinin	0	76	,8250	,20569	,02359
	1	76	,9126	,25347	,02908
Na	0	76	140,89	3,329	,382

	1	76	139,87	11,702	1,342
K	0	76	4,5104	,56741	,06509
	1	76	4,4478	,46639	,05350
Cl	0	76	101,25	3,906	,448
	1	76	100,26	11,214	1,286
WBC	0	76	7819,74	2493,352	286,007
	1	76	8131,58	2218,060	254,429
Hgb	0	76	13,4053	1,78145	,20435
	1	76	13,5092	1,67389	,19201
Hct	0	76	39,3763	6,57968	,75474
	1	76	39,9421	4,61823	,52975
PLT	0	76	236171,05	66173,588	7590,631
	1	76	225644,74	62996,868	7226,236
Nötrofil	0	76	4717,11	2214,822	254,058
	1	76	4802,63	1488,979	170,798
Lenfosit	0	76	2259,21	873,793	100,231
	1	76	2457,89	1519,848	174,338
Monosit	0	76	669,21	234,001	26,842
	1	76	685,53	261,638	30,012
Bazofil	0	76	41,974	51,7177	5,9324
	1	76	56,579	125,7887	14,4290
Eozonofil	0	76	2,5697	1,72526	,19790
	1	76	2,5092	1,43946	,16512
TSH	0	76	2,2633	1,33049	,15262
	1	76	2,1159	1,75102	,20086
EFyüzde	0	2	60,00	,000	,000
	1	76	55,79	8,629	,990

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
PEPD düzeyi	Equal variances assumed	70,203	,000	4,718	148	,000
	Equal variances not assumed			4,718	95,584	,000
Glukoz	Equal variances assumed	1,090	,298	-1,129	150	,261
	Equal variances not assumed			-1,129	149,837	,261
HbA1c	Equal variances assumed	2,070	,152	-2,253	150	,026
	Equal variances not assumed			-2,253	149,558	,026
TKolesterol	Equal variances assumed	1,674	,198	,768	150	,444
	Equal variances not assumed			,768	148,402	,444
HDL	Equal variances assumed	,070	,791	2,358	150	,020
	Equal variances not assumed			2,358	149,782	,020
LDL	Equal variances assumed	,018	,893	,692	150	,490
	Equal variances not assumed			,692	149,931	,490
Trig	Equal variances assumed	1,760	,187	-1,996	150	,048
	Equal variances not assumed			-1,996	137,988	,048
ALT	Equal variances assumed	11,367	,001	-2,242	150	,026
	Equal variances not assumed			-2,242	101,244	,027
AST	Equal variances assumed	11,904	,001	-2,130	150	,035
	Equal variances not assumed			-2,130	101,776	,036
BUN	Equal variances assumed	,000	,984	-,286	150	,775
	Equal variances not assumed			-,286	149,786	,775
Kreatinin	Equal variances assumed	1,645	,202	-2,340	150	,021
	Equal variances not assumed			-2,340	143,899	,021
Na	Equal variances assumed	,762	,384	,735	150	,463

	Equal variances not assumed			,735	87,060	,464
K	Equal variances assumed	12,826	,000	,743	150	,458
	Equal variances not assumed			,743	144,583	,458
Cl	Equal variances assumed	1,432	,233	,725	150	,470
	Equal variances not assumed			,725	92,936	,471
WBC	Equal variances assumed	,596	,441	-,815	150	,417
	Equal variances not assumed			-,815	147,993	,417
Hgb	Equal variances assumed	,061	,805	-,371	150	,711
	Equal variances not assumed			-,371	149,422	,711
Hct	Equal variances assumed	,920	,339	-,614	150	,540
	Equal variances not assumed			-,614	134,465	,541
PLT	Equal variances assumed	,008	,928	1,004	150	,317
	Equal variances not assumed			1,004	149,638	,317
Nötrofil	Equal variances assumed	3,691	,057	-,279	150	,780
	Equal variances not assumed			-,279	131,295	,780
Lenfosit	Equal variances assumed	1,140	,287	-,988	150	,325
	Equal variances not assumed			-,988	119,697	,325
Monosit	Equal variances assumed	,209	,648	-,405	150	,686
	Equal variances not assumed			-,405	148,169	,686
Bazofil	Equal variances assumed	3,547	,062	-,936	150	,351
	Equal variances not assumed			-,936	99,652	,351
Eozonofil	Equal variances assumed	1,839	,177	,235	150	,815
	Equal variances not assumed			,235	145,335	,815
TSH	Equal variances assumed	,074	,786	,584	150	,560
	Equal variances not assumed			,584	139,952	,560
EFyüzde	Equal variances assumed	2,709	,104	,686	76	,495
	Equal variances not assumed			4,254	75,000	,000

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means			
		Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower	Upper
PEPD düzeyi	Equal variances assumed	123,09267	26,08882	71,53796	174,64737
	Equal variances not assumed	123,09267	26,08882	71,30389	174,88144
Glukoz	Equal variances assumed	-7,566	6,702	-20,808	5,677
	Equal variances not assumed	-7,566	6,702	-20,808	5,677
HbA1c	Equal variances assumed	-,328	,145	-,615	-,040
	Equal variances not assumed	-,328	,145	-,615	-,040
TKolesterol	Equal variances assumed	5,671	7,387	-8,924	20,267
	Equal variances not assumed	5,671	7,387	-8,926	20,268
HDL	Equal variances assumed	4,474	1,897	,725	8,222
	Equal variances not assumed	4,474	1,897	,725	8,222
LDL	Equal variances assumed	4,697	6,790	-8,719	18,114
	Equal variances not assumed	4,697	6,790	-8,719	18,114
Trig	Equal variances assumed	-26,421	13,237	-52,576	-,266
	Equal variances not assumed	-26,421	13,237	-52,594	-,248
ALT	Equal variances assumed	-7,408	3,304	-13,936	-,880
	Equal variances not assumed	-7,408	3,304	-13,962	-,854
AST	Equal variances assumed	-4,487	2,106	-8,649	-,325
	Equal variances not assumed	-4,487	2,106	-8,665	-,309
BUN	Equal variances assumed	-,224	,783	-1,770	1,323
	Equal variances not assumed	-,224	,783	-1,770	1,323
Kreatinin	Equal variances assumed	-,08763	,03744	-,16162	-,01365
	Equal variances not assumed	-,08763	,03744	-,16164	-,01362
Na	Equal variances assumed	1,026	1,396	-1,731	3,784

	Equal variances not assumed	1,026	1,396	-1,748	3,800
K	Equal variances assumed	,06263	,08425	-,10384	,22911
	Equal variances not assumed	,06263	,08425	-,10389	,22916
Cl	Equal variances assumed	,987	1,362	-1,704	3,678
	Equal variances not assumed	,987	1,362	-1,718	3,692
WBC	Equal variances assumed	-311,842	382,798	-1068,214	444,530
	Equal variances not assumed	-311,842	382,798	-1068,298	444,614
Hgb	Equal variances assumed	-,10395	,28040	-,65799	,45010
	Equal variances not assumed	-,10395	,28040	-,65801	,45012
Hct	Equal variances assumed	-,56579	,92210	-2,38777	1,25619
	Equal variances not assumed	-,56579	,92210	-2,38948	1,25790
PLT	Equal variances assumed	10526,316	10480,275	-10181,716	31234,348
	Equal variances not assumed	10526,316	10480,275	-10182,123	31234,755
Nötrofil	Equal variances assumed	-85,526	306,132	-690,415	519,362
	Equal variances not assumed	-85,526	306,132	-691,117	520,064
Lenfosit	Equal variances assumed	-198,684	201,097	-596,034	198,665
	Equal variances not assumed	-198,684	201,097	-596,853	199,485
Monosit	Equal variances assumed	-16,316	40,264	-95,874	63,242
	Equal variances not assumed	-16,316	40,264	-95,882	63,250
Bazofil	Equal variances assumed	-14,6053	15,6009	-45,4312	16,2207
	Equal variances not assumed	-14,6053	15,6009	-45,5584	16,3478
Eozonofil	Equal variances assumed	,06053	,25774	-,44874	,56979
	Equal variances not assumed	,06053	,25774	-,44887	,56992
TSH	Equal variances assumed	,14737	,25226	-,35107	,64581
	Equal variances not assumed	,14737	,25226	-,35137	,64610
EFyüzde	Equal variances assumed	4,211	6,141	-8,020	16,441
	Equal variances not assumed	4,211	,990	2,239	6,182

Group Statistics

	mutant allele rs17570	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
PEPD düzeyi	normal homozigot GG rs17570	47	307,3194	73,50024	10,72111
	mutant A allele rs17570	28	268,0743	89,14252	16,84635
Glukoz	normal homozigot GG rs17570	48	115,13	31,691	4,574
	mutant A allele rs17570	28	121,93	55,847	10,554
HbA1c	normal homozigot GG rs17570	48	6,38	,824	,119
	mutant A allele rs17570	28	6,25	1,079	,204
TKolesterol	normal homozigot GG rs17570	48	179,88	35,327	5,099
	mutant A allele rs17570	28	186,25	54,431	10,286
HDL	normal homozigot GG rs17570	48	45,25	12,760	1,842
	mutant A allele rs17570	28	42,68	10,325	1,951
LDL	normal homozigot GG rs17570	48	121,50	32,786	4,732
	mutant A allele rs17570	28	135,89	52,495	9,921
Trig	normal homozigot GG rs17570	48	165,00	101,682	14,677
	mutant A allele rs17570	28	157,96	76,947	14,542
ALT	normal homozigot GG rs17570	48	27,98	27,968	4,037
	mutant A allele rs17570	28	32,71	23,987	4,533
AST	normal homozigot GG rs17570	48	23,58	15,618	2,254
	mutant A allele rs17570	28	27,89	18,812	3,555

FORMLAR

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Sizi İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünde Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan yürütücülüğünde gerçekleştirilecek olan “**Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (PEPD) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı klinik araştırma çalışmasına davet ediyoruz. Çalışmamızda PEPD geninin dizi analizini gerçekleştirerek ve serum prolidaz düzeyi belirlenerek koroner arter ektazi (KAE) ve sağlıklı kontrol gruplarında KAE hastalık gelişim riski üzerindeki olası etkilerini belirlemeyi amaçladık. Sizden test için 2 tüp kan (10cc) alınıp İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü laboratuvarında genetik analizi gerçekleştirilecektir, bunun dışında herhangi bir amaç için kullanılmayacaktır. Araştırmamız boyunca sizlere herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır. Anlamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa açıklanmasını talep ediniz.

Siz bu araştırmanın gönüllü grubu içinde yer alacaksınız. Sizden ve diğer katılımcılardan elde edilecek bilgiler veya verilerle bilimsel bir sonuca ulaşılabilecektir. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce araştırmanın niçin, nasıl, ne yöntemle yapılacağı ve sizden ne istendiği katılmanın size getireceği faydaları, riskleri ve rahatsızlıkları bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle, bu formun okunup anlaşılması önemlidir. Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız.

Anlamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa açıklanmasını talep ediniz. Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra çıkma hakkına sahipsiniz.

Bu proje kapsamında yapılacak her türlü işlem için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. Bu proje sizin sosyal güvenli kurumu veya diğer sağlık sigortası kuruluşlarıyla ilgili ödemelerinize herhangi bir yük getirmeyecektir.

Sonuçlarınız ve kimliğiniz gizli tutulacaktır. Ancak istemeniz halinde elde edilen sonuçlar rapor halinde size verilecektir.

Bu çalışmada hasta ve kontrol grubu olmak üzere iki örnek grubu kullanılacaktır. Birinci grup İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü tarafından takip edilen ve anjiyografik yöntemlerle koroner arter ektazi tanısı konmuş 100 hastadan oluşturulacaktır. İkinci grup ise, 100 kişiden yüksek tansiyon ve kalp rahatsızlığı hikayesi olmayan sağlıklı bireylerden oluşturulacaktır. Klinik parametrelere ait ayrımlar yukarıda belirtilen klinik tarafından yapılacak ve kan örnekleri bu birim tarafından sınıflandırılarak anabilim dalımıza gönderilecektir ve amacımız PEPD gen varyasyonlarının KAE gelişimindeki rolünü saptamaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği

“Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (PEPD) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması” başlıklı projenin bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu okudum. Bana ayrıca İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsündeki çalışma hakkında gerekli bilgiler sözlü olarak da açıklandı. Açıklamaları tamamen anladım. Yapılacak çalışma ile ilgili soru sorma hakkım anlatıldı. Sorularım açıklayıcı ve anlaşılır yanıtlar verildi. Bana çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları da açıklandı. Çalışmaya katılmamam halinde hiçbir sorumluluk altına girmeyeceğim, herhangi bir zamanda çalışmadan ayrılabilirim açıkça söylendi. Bu koşullar altında projeye kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum. Çalışmadan elde edilen bilgilerin kimliğim gizli kalmak koşulu ile yayın ve arşivleme dahil her türlü kullanımına onay veriyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı

Adresi (varsa telefon no)

İmzası

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı

Adresi (varsa telefon no)

İmzası

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-soyadı

İmzası

As.Dr. ONUR KILIÇARSLAN

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık edenin

Adı-soyadı

Görevi

İmzası

Hasta Takip Formu**AD SOYAD:****YAŞ:****CİNSİYET :****PROTOKOL:****TELEFON:****KORONERANJİOGRAFİ TARİHİ:****KORONERANJİOGRAFİ SONUCU:****EKTAZİNİN BULUNDUĞU DAMAR:****EKTAZİLİ DAMAR SAYISI:****BİYOKİMYA SONUÇLARI:****HGB:****HCT:****PLT:****WBC:****KRE:****Na:****K:****LDL:****HDL:****TOTAL KOLESTEROL:****TRİGLİSERİD:**

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 764

Tarih : 28.05.2018

Konu: Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN hk.

Sayın Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

İlgi : Moleküler Tıp Anabilim Dalının 11/05/2018 gün ve 173204 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve MSc. Kübra Çiğdem PEKKOÇ' un yürüteceği 2018/714 dosya numaralı "Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (PEPD) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 25/05/2018 tarih ve 10 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (PEPD) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması"			
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hülya Yılmaz AYDOĞAN			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Tıp, Biyokimya			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı			
DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
	Yüksek Doz Araştırması	☐		
	Diğer ise belirtiniz :			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLAR ARASI ☐

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Koroner Arter Ektazi Hastalarında Prolidaz Gen (PEPD) Mutasyonlarının Risk Etkilerinin Araştırılması"
-----------------------	--

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	14.05.2018		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:10	Tarih: 25/05/2018		
	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Hülya Yılmaz AYDOĞAN' ın sorumluluğunda ve MSc. Kübra Çiğdem PEKKOÇ' un yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU									
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Sevda ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile ilişki
 ** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KORONER ARTER EKTAZİ HASTALARINDA PROLİDAZ GEN (PEPD) MUTASYONLARININ RİSK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJİNALLIK RAPORU

%6	%3	%2	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
3	www.turkjbiochem.com İnternet Kaynağı	<%1
4	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
5	Submitted to Erciyes Āniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	Submitted to Haliç Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
7	egetipdergisi.com.tr İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Kübra Çiğdem	Soyadı	PEKKOÇ UYANIK
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	08.01.1990
Email	kubra.cigdembg@gmail.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi - Moleküler Tıp	2020
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi - Genetik	2016
Lisans	İstanbul Üniversitesi - Moleküler Biyoloji ve Genetik	2012
Lise	Nişantaşı Nuri Akın Anadolu Lisesi (Fen alanı)	2008

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	Haliç Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D.	2015 - Halen

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	70		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok İyi
SPSS	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**Uluslararası makaleler**

1. Dasdemir S., Guven M., Pekkoç K.C., Ulucan H., Dogangun B., Kirtas E., Kadak M.T., Kucur M., Seven M. (2016). DNA repair gene XPD Asp312Asn and XRCC4 G-1394T polymorphisms and the risk of autism spectrum disorder. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). Mar 20;62(3):46-50.

Ulusal makaleler

1. Pekkoç-Uyanık K.Ç., Kılıçarslan O., Ser Ö.S., Öztürk O., Yılmaz-Aydoğan H. (2020). Koroner Arter Ektazi ve Genetik Yatkınlık. Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,

Ulusal Bildiriler

1. Akadam-Teker B., Pekkoç-Uyanık K.Ç., Aslan R.I., Javadova Z., Kılıçarslan O., Yıldız A., Öztürk O., Yılmaz-Aydoğan H. (2019). Functional +874T/A polymorphism of interferon-gamma gene is associated with serum cholesterol levels. International Congress of Molecular Medicine, 5-7 September (Poster sunumu).

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Tiyatro