

Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz Gen Polimorfizmleri ile Primer Açık Açılı Glokom Arasındaki İlişki

Mustafa BERHUNİ*, Sevdâ Yeşim ÖZDEMİR**, Sarper KARAKÜÇÜK***, Hatice ARDA****

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada endotelyal nitrik oksit sentaz gen polimorfizmi ile primer açık açılı glokom arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 100 primer açık açılı glokomlu hasta grubu ve 100 sağlıklı kontrol grubu dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundan venöz kan örnekleri toplandı. Bu örneklerden genomik DNA'lar izole edildi. Rs7830, rs1799983 ve rs2853796 genotipleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon ile analiz edildi.

Bulgular: Hasta ve kontrol grubu arasında endotelyal nitrik oksit sentaz geni rs1799983 veya rs2853796 polimorfizmleri açısından belirgin bir farklılık yoktu (p:0,327, p:0,265). Rs7830 AC (taşıyıcı-heterozigot) genotipi kontrol grubunda daha yüksek idi (p:0,017).

Sonuç: Çalışmamızda primer açık açılı glokom ile endotelyal nitrik oksit sentaz geni rs1799983 ve rs2853796 polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki bulamadık. Bununla beraber rs7830 AC (taşıyıcı-heterozigot) genotipinin sağlıklı kontrol grubunda yüksek olması, rs7830 AC gen polimorfizminin primer açık açılı glokomdan koruyucu bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Primer açık açılı glokom, Endotelyal nitrik oksit sentaz, Polimorfizm, Glokom genetik

Association of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms with Primary Open Angle Glaucoma

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to investigate the association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with primary open angle glaucoma.

Material and Method: One hundred patients with polymorphisms with primary open angle glaucoma and 100 healthy controls were included in the study. Venous blood samples were collected from patients and the control group. Genomic DNAs were isolated from these samples. Rs7830, rs1799983 and rs2853796 genotypes were analyzed by real time polymerase chain reaction.

Results: There was no significant difference between the patients with polymorphisms with primary open angle glaucoma and controls in terms of endothelial nitric oxide synthase gene rs1799983 or rs2853796 polymorphisms (p:0.327, p:0.265; resp.). rs7830 AC (carrier-heterozygote) genotype was higher in the control group (p:0.017).

Conclusion: There was not any significant association between endothelial nitric oxide synthase gene rs1799983, rs2853796 polymorphisms and the polymorphisms with primary open angle glaucoma in our study. On the other hand, higher rs7830 AC (carrier-heterozygote) genotype in the control group may suggest that rs7830 (AC) polymorphisms may be a protective factor against the development of polymorphisms with primary open angle glaucoma.

Keywords: Polymorphisms with primary open angle glaucoma, Endothelial nitric oxide synthase, Polymorphism, Glaucoma genetics

*Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği, Gaziantep. **Memorial Şişli Hastanesi Genetik Bölümü, İstanbul. *** Anadolu Sağlık Merkezi Göz Hastalıkları Kliniği, Kocaeli. ****Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Kayseri
Yazışma Adresi: Mustafa Berhuni, Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği, Gaziantep
e-posta: mustafaberhuni@gmail.com
Geliş Tarihi: 21.02.2017 Kabul Tarihi: 17.08.2017

Quick Response Kod:	Bu makaleye online erişim
	Website: http://www.medicalnetwork.com.tr • e-posta: oftalmoloji@medicalnetwork.com.tr
	Bu çalışmanın kaynak olarak gösterimi: Berhuni M. Özdemir SY. Karaküçük S. Arda H. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz Gen Polimorfizmleri ile Primer Açık Açılı Glokom Arasındaki İlişki. MN Oftalmoloji 2017;24(3):143-148

Giriş

Glokom, dünyada geri dönüşümsüz körlüklerin en sık ikinci nedenidir. Primer açık açılı glokom (PAAG) glokom hastalarının %60-70'ini oluşturur. PAAG'nın dünya çapında 40 yaş üzeri pre-

valansı %1 oranındadır.¹ PAAG hastalığı için risk faktörleri uzun süre tartışma konusu olmuştur. Bunlardan en çok üzerinde durulanlar, GİB'in yanı sıra ileri yaş, ırk, aile hikayesi, göz hastalıkları ve birtakım sistemik hastalıklardır.² Son yıllarda önemli bir risk faktörü olarak aile hikayesi üzerinde durulmaktadır.^{3,4} Fuse ve

ark.⁵ PAAG hastalarının birinci derece akrabalarında ilerde glokom gelişme riskini %22, kontrol grubu bireylerde %2,3 olarak rapor etmişlerdir.

Son yıllarda moleküler genetik alanındaki gelişmeler birçok hastalığın erken tanısı ve tedavisi için umut vadetmektedir. Etyolojisinde kompleks multifaktöryel etkenlerin suçlandığı PAAG' da, genetiğin de çok önemli bir yer tuttuğu inkar edilemez. Hastalığa yatkınlığı gösteren gen polimorfizmi, genetik alanda hastalıkların erken tanısı ve tedavisi için önemli bir yer tutmaktadır. En sık görülen polimorfizm, single nükleotid polimorfizmdir (SNP). SNP, DNA'daki tek nükleotid değişiklikleri olarak tanımlanabilir ve hastalığa yatkınlığı belirler.

Nitrik oksit (NO), vasküler endotelde endotelial nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenen potent bir vazomodülatördür. Bazı çalışmalarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi tarafından sentezlenen NO'nin oküler kan dolaşımında vazodilatasyon ve lokal kan akımı artışı gibi etkileri bildirilmiştir.^{6,7} Ayrıca eNOS tarafından sentezlenen NO'nin retinal hipoksi durumlarında retinal perfüzyonu artırıcı etkisi olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur.⁸ Çalışmamızda eNOS genine ait 3 adet SNP ile PAAG ilişkisini araştırmayı hedefledik. Bu SNP'ler; rs7830, rs1799983 ve rs2853796'dır. Bu polimorfizmlerden rs7830 ve rs1799983 ile PAAG ilişkisini araştıran çalışmalar mevcut olup, rs2853796 ile ilgili çalışma yoktur. Bu SNP'leri seçme amacımız rs7830 ve rs1799983 ile PAAG arasındaki ilişki ile ilgili yapılan çalışmalarla ilgili literatüre katkı sağlamak ve rs2853796 ile PAAG arasında ilişki olup olmadığını araştırmaktır. Yapılan çalışmalarda eNOS genine ait rs1799983 SNP ile PAAG arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir.^{9,10,11} Ayrıca yapılan bir çalışmada rs7830 SNP ile PAAG arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir.¹² Rs 2853796 ile PAAG ilişkisi ile ilgili bir çalışma olmayıp, bu çalışmamız bu alanda bir ilktir. Çalışmamızda, eNOS geninin bu 3 SNP'inin PAAG ilişkisini araştırdık. Çalışmamızın ileride yapılacak PAAG ve genetik ile ilgili çalışmalara ışık tutmasını ve erken tanı ve tedavi için literatüre katkı sunmasını hedeflemekteyiz.

Gereç ve Yöntem

Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun çalışmaya dahil edilme kriterleri ve kan örneklerinin toplanması

Hastanemizin göz kliniğine başvuran 100 PAAG hastası ile 100 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya dahil edildi.

Primer açık açılı glokom hasta grubunun çalışmaya dahil edilme kriterleri; glokomatöz optik sinir hasarı olan, tipik görme alanı defekti olan, göz içi basınçları tedavi olmadan 21mmHg üzerinde olan, -5 diyoptri ve +5 diyoptri arası refraktif kusurları olan, başka herhangi bir göz hastalığı veya sistemik hastalığı olmayan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Sağlıklı kontrol grubunun çalışmaya dahil edilme kriterleri; kliniğe basit göz şikayetleri ile başvuran, optik sinir hasarı ve görme alanı defekti olmayan, göz içi basınçları 21mmHg üzerinde olan, herhangi bir göz hastalığı ve sistemik hastalığı olmayan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışma öncesi hasta ve kontrol grubu üyelerinden bilgilendirilmiş onam alındı. Bölgesel Etik Kuruldan etik kurul onayı alındı. (Tarih: 13.09.2012 - No: 2012/588)

Her bir hasta ve kontrol grubundaki bireylere Snellen ile görme keskinliği muayenesi yapıldı. Biyomikroskopi ile ön segment yapıları değerlendirildi. Doksan dioptri mercek ile fundus muayenesi yapıldı, C/D oranları kaydedildi. Aplanasyon tonometresi ile göz içi basınçlar ölçüldü. Humphrey perimetreye (Humphrey Field Analizer 750i, Humphrey-Zeis, Dublin CA, ABD) görme alanları kaydedildi. HRT (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg) ile optik disk değerlendirildi.

Hasta ve kontrol grubundan venöz kan örnekleri antekübital venden vacutainer aracılığı ile alınarak DNA izolasyonu için EDTA toplama tüpünde +4 santigrad derecede saklandı.

Kandan genomik DNA izolasyonu

Kandan genomik DNA izolasyonu için High Pure Template Preparation Kit (Roche, İsviçre) kullanıldı. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örnekleri kullanılarak aşağıdaki basamaklar takip edildi.

1- 1,5 mL'lik steril mikrofij tübüne EDTA'lı tüpte bulunan kan örneklerinden 200 µL alındı.

2- Kan örneklerinin üzerine 200 µL Binding Buffer ve 40 µL Proteinaz K eklendi ve 70 santigrat derecede 10 dk inkübe edildi. Bu aşamada genomik DNA dışındaki proteinler denatüre edilerek ortamdan uzaklaştırılmış olur.

3- 100 µL isopropanolol eklenerek iyice karıştırıldı.

4- Bir adet High Pure Filter tüpü bir adet toplama tüpüne yerleştirildi ve bu tüpe pipet yardımıyla karışımından örnek materyal konuldu. 8.000 devirde 1 dk boyunca santrifüj edildi. Bu aşamada daha önceki basamakta denatüre edilerek parçalanan proteinler toplama tüpüne aktarılırken genomik DNA high püre filtreli tüpte filtreye tutunmuş olur.

5- Filter tüpü toplama tüpünden ayrıldı ve yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. 500 µL İnhibitör Removal Buffer eklendi ve 8.000 devirde 1 dk boyunca santrifüj edildi.

6- Filter tüpü toplama tüpünden ayrıldı ve yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. 500 µL Wash Buffer eklendi ve 8.000 devirde 1 dk boyunca santrifüj edildi. Bu aşamada DNA yıkama solüsyonu sayesinde diğer artık ve proteinlerden arındırılmış olur.

7- Yüzeydeki akıntı çıkarıldı ve 13.000 devirde 10 dk boyunca santrifüj edildi.

8- Toplama tüpü ayrıldı ve filtre tüpü temiz ve steril 1,5 mL mikrosantrifüj tüpe yerleştirildi ve 200 µL Elution Buffer eklendi. Bu aşamada filtreye tutunmuş olan DNA suda çözünür hale gelir.

9- 8.000 devirde 1 dk santrifüj edilerek filtre atıldı ve DNA izolasyon işlemi tamamlanmış oldu.

İzole edilen DNA'lar gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

polimeraz zincir reaksiyonu ile DNA çoğaltılması

Polimeraz zincir reaksiyonu, DNA'nın iki zincirinin yüksek sıcaklıkla birbirinden ayrılması (denatürasyon), sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyon), çift iplikli DNA'ların sentezi ve bu siklusun belirli sayıda tekrarlanması ile DNA'nın çoğaltılması esasına dayanır.

Çalışmamızda eNOS genine ait 3 SNP çalışıldı. Bunlar, rs7830, rs1799983, rs2853796 idi. Her SNP için uygun karışımlar hazırlandı. Bu karışımlarda H₂O, reaktif karışım (her bir SNP'ye uygun primer ve problemleri içerir), DNA polimeraz enzimi ve MgCl₂ mevcuttu. Bu karışımlara daha önce elde edilen DNA örnekleri eklendi.

Hazırlanan karışımlar 96'lık Plate'lere yerleştirildi. Hazırlanan Plate'ler LightCycler 480 PCR (Roche Diagnostic, Mannheim, Almanya) cihazının Plate yuvalarına yerleştirildi.

95°C'de DNA denatürasyonu ile çift zincir ayrıldı. Ayrılmış olan DNA zincirlerine primerler bağlandı. DNA polimeraz enzimi ile hedef bölge sentezlendi. Bu 3 aşamalı siklus 30-40 kez tekrarlandı. Binlerce DNA elde edildi.

LightCycler 480 PCR cihazından alınan veriler toplandı. Melting peak'ler ve bulundukları sıcaklık dereceleri ile SNP'lerin homozigot sağlıklı, homozigot mutant ve heterozigot taşıyıcı ayırımı yapıldı.

Rs7830 için referans alınan sekans analizi

GACTCCCTTCAGGCAGTCCTTTAGTC[A/C]CCAGCCTCACCTTTGCTCTCAATGT

Melting peak, 63,27°C'de tek peak ise CC (homozigot sağlıklı), 56,06°C'de tek peak ise AA (homozigot mutant), bu sıcaklıklarda ayrı ayrı 2 peak varsa AC heterozigot taşıyıcı olarak değerlendirildi (Şekil 1).

Rs1799983 için referans alınan sekans analizi

CCCCTGCTGCTGCAGGCCCCAGATGA[G/T]CCCCCA-GAACTCTTCCTTCTGCCCC

Melting peak, 65,98°C'de tek peak ise TT (homozigot sağlıklı), 60,01°C'de tek peak ise GG (homozigot mutant), bu sıcaklıklarda ayrı ayrı 2 peak varsa GT heterozigot taşıyıcı olarak değerlendirildi (Şekil 2).

Rs2853796 için referans alınan sekans analizi

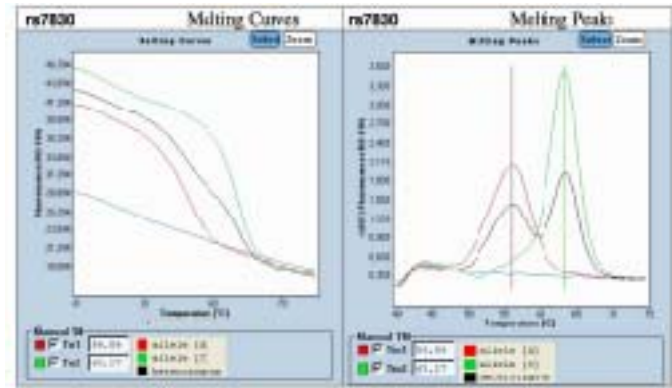
ACCCTGAAGCCGTCCTGGGGCTGGG[G/T]CTGGGCC TAGCCTGTATCCCCAGGG

Melting peak, 68,39°C'de tek peak ise TT (homozigot sağlıklı), 54,52°C'de tek peak ise GG (homozigot mutant), bu sıcaklıklarda ayrı ayrı 2 peak varsa TG heterozigot taşıyıcı olarak değerlendirildi (Şekil 3).

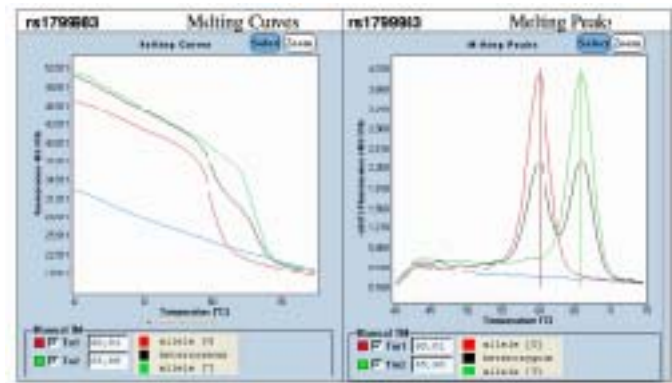
Verilerin istatistiksel analizi:

Veriler IBM uyumlu bilgisayarda SPSS® Statistics 21 istatistik paket programında değerlendirildi. Sayısal değişkenlerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız iki örnek t testi, normal dağılım göster-

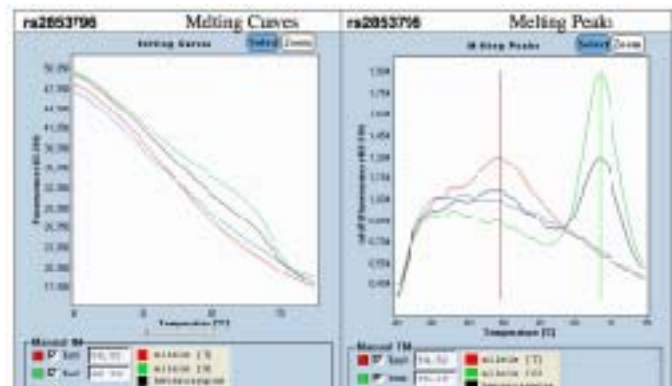
meyen değişkenler için Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiye Ki kare testi ile bakıldı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 1: Rs7830 için allellerin erime piki sıcaklık dereceleri



Şekil 2: Rs1799983 için allellerin erime piki sıcaklık dereceleri



Şekil 3: Rs2853796 için allellerin erime piki sıcaklık dereceleri

Bulgular

Çalışma kapsamında incelenen bireylerin, yaş ortalamaları, cinsiyetleri, klinik bulguları değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet ve yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p:0,887$, $p:0,091$) (Tablo 1).

Rs7830, rs1799983, rs2853796 genotip frekansları tablo 2'de hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldı.

Tablo 1: Hasta ve kontrol bireylerin yaş ortalamaları ve cinsiyetlerine göre dağılımı

Grup	*Ortalama yaş	**Kadın	**Erkek	Toplam
Hasta	62,42±11,123	45 %45,0	55 %55,0	100 %100,0
Kontrol	59,71±11,423	44 %44,0	56 %56,0	100 %100,0
Toplam		89 %44,5	111 %55,5	200 %100,0

Table 2: Hasta ve kontrol grubu arasında rs7830, rs1799983, rs2853796 genotip frekanslarının karşılaştırılması

rs7830 genotip	Hasta	Kontrol	Toplam	p değeri
AA	9 %12,2	9 %10,8	18 %11,5	0,971
AC	25 %33,8	44 %53,0	69 %43,9	*0,017
CC	40 %54,1	30 %36,1	70 %44,6	0,146
TOPLAM	74 %100,0	83 %100,0	157 %100,0	
rs1799983 genotip				
GG	34 %46,6	46 %55,4	80 %51,3	0,327
TG	29 %39,7	31 %37,3	60 %38,5	0,945
TT	10 %13,7	6 %7,2	16 %10,3	0,746
TOPLAM	73 %100,0	83 %100,0	156 %100,0	
rs2853796 genotip				
GG	26 %31,0	30 %33,0	56 %32,0	0,587
GT	38 %45,2	48 %52,7	86 %49,1	0,238
TT	20 %23,8	13 %14,3	33 %18,9	0,265
TOPLAM	84 %100,0	91 %100,0	175 %100,0	

Rs7830 AC (taşıyıcı-hetrozigot) frekansı kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldi ($p:0,017$). Hasta ve kontrol grubu arasında, rs7830 AA (mutant-homozigot) ve CC (sağlıklı-homozigot) genotip frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p:0,971$, $p:0,146$). Hasta ve kontrol grubunda toplam AA frekansı 18 (%11,5), toplam CC frekansı 70 (%44,6), toplam AC frekansı 69 (%43,9) olarak bulundu.

Rs1799983 GG,TG,TT genotip frekansları açısından hasta ve

kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p:0,327$, $p:0,945$, $p:0,746$). Toplam GG (homozigot mutant) frekansı 80 (%51,3) olarak bulundu. Toplam TT frekansı 16 (%10,3), toplam TG frekansı 60 (%38,5) olarak bulundu.

Rs2853796 GG, GT, TT genotip frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p:0,265$, $p:0,238$, $p:0,587$). Bu grupta toplam GT frekansı 86 (%49,1), GG frekansı 56 (%32,0), TT frekansı 33 (%18,9) olarak bulundu.

Tartışma

Kompleks bir nörodejeneratif hastalık olan PAAG ile ilgili çeşitli polimorfizm çalışmaları mevcuttur. Hastalıkla ilgili olduğu düşünülen bazı polimorfizmlerin hastalık üzerine etkileri incelenerek bu polimorfizmlerin glokomun ortaya çıkışı ve gelişimine ne oranda etki ettikleri birçok araştırma grubunca çalışılmaktadır. Glokomun en yaygın görülen tipi olan PAAG, polimorfizm çalışmalarının da en sık gerçekleştirildiği glokom tipidir.

Primer açık açılı glokomda ilerleyici gangliyon hücre hasarının mekanizması tam olarak açık değildir. Retinal gangliyon hücre hasarında savunulan en önemli mekanizma hipoksi ve iskemi mekanizmasıdır. Vasküler regülasyonda önemli fonksiyonları olan medyatörlerden biri de NO'tır. NO, aköz hümör dinamiklerinin, nöronal vizüel proseslerin, oküler kan akımının düzenlenmesinde ve apoptozla retinal gangliyon hücre ölümünün kontrolünde önemli bir medyatördür.^{13,14} NO sentezinden sorumlu enzimlerden biri de eNOS'tur. Hipoksik durumlarda eNOS enzimi medyatörlüğünde salgılanan NO'in RGH'lerinde perfüzyonu arttırarak koruyucu etkili olduğu savunulmaktadır.⁸ Yine eNOS genetik polimorfizmine bağlı eNOS over ekspresyonu sonrası sentezlenen yüksek oranda NO oksitlenerek peroksinitrit anyonlarına dönüşür. Peroksinitrit anyonlarının, RGH'de apoptozu tetikleyerek hasara neden olduğu savunulmaktadır.¹⁵ Sonuçta eNOS genindeki polimorfizmlere sekonder olarak NO seviyeleri normal düzeylerden sapma göstermekte ve vasküler disregülasyona bağlı RGH'de hipoksi ve iskemi meydana gelmekte veya oksidan madde birikimiyle RGH'de apoptoz mekanizması tetiklenerek hücre kaybı meydana gelmektedir.

Pakistan'da yapılan toplum bazlı bir çalışmada, eNOS geni intron 4'teki 27-bp VNTR polimorfizminin PAAG ve aynı zamanda PAKG ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur.¹⁶ Bununla beraber bazı çalışmalar PAAG ile eNOS intron 4 VNTR polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığını ortaya koymuştur.^{17,18} Avrupa'da beyaz ırk üzerinde yapılan multisentrik ve geniş kapsamlı bir çalışmada eNOS genindeki G894T ve T-786C polimorfizmleri ile PAAG arasında herhangi bir ilişki olmadığı bildirilmiştir.¹⁹ Avusturalya'da beyaz ırk üzerinde yapılan bir çalışmada, eNOS geninin 5. flanking bölgesi polimorfizminin familial PAAG ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir.²⁰ Başka bir çalışmada, eNOS geni T-786C ve VNTR polimorfizmi ile migren hikayesi olan PAAG hastaları arasında belirgin bir ilişki olduğu bildirilmiştir.²¹ Çin'de yapılan bir çalışmada, eNOS geninde rs3793342 ve rs11771443 ile tanımlanmış C-T haplotiplerinin PAAG hastalarında bir marker olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.¹²

Çalışmamızda, rs7830 CC (homozigot sağlıklı) genotipi, hasta grubunda, kontrol grubuna oranla daha yüksek oranda bulunmuştur. Yapılan birçok çalışmada polimorfizmlerin bazı hastalıkların etyopatogenezinde önemli rol oynadığı rapor edilmiş olmakla beraber, çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgu ile eNOS genine ait rs7840 polimorfizminin Türk toplumunda PAAG'den koruyucu olabileceğini düşünmekteyiz. Benzer şekilde, ülkemizde yapılan bir çalışmada, IL-10 -1082 ACC/ATA polimorfizminin AML oluşumundan koruyucu bir faktör olabileceği bildirilmiştir.²² Çin'de yapılan bir çalışmada rs7830 için CC genotipi açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p:0,771$).¹² Kang ve ark.¹⁰ yaptıkları çalışmada, rs7830 için CC genotipi açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p:0,70$).

Çalışmamızda, hasta ve kontrol grubu arasında rs1799983 genotip frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadık. Benzer şekilde Avusturya'da yapılan bir çalışmada eNOS genine ait rs1799983 polimorfizmi ile PAAG arasında bir ilişki olmadığı rapor edilmiştir.⁹ Yine Kang ve ark.¹⁰ tarafından eNOS genine ait rs1799983 polimorfizmi ile PAAG arasında ilişki olmadığı rapor edilmiştir.

Çalışmamızda rs1799983'ün toplam genotip frekansları GG: %51,3, TG: %38,5, TT: %10,3 olarak bulundu. Benzer şekilde beyaz ırk üzerinde yapılan iki çalışmada da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Bunlardan birinde rs1799983 genotip frekansları; GG: %46, GT:%42, TT:%12 olarak rapor edilmiştir.⁹ Başka bir çalışmada, rs179983 genotip frekansları GG: %41, GT:%46, TT:%13 olarak rapor edilmiştir.¹¹

Çalışmamızda, rs2853796 genotip frekansı açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Literatürde, PAAG ve eNOS geni rs2853796 polimorfizmi ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamız bu alanda bir ilktir.

Çalışmamız, Türk toplumunda eNOS polimorfizmi ile PAAG ilişkisinin araştırılması alanında ilk çalışma olmuştur. Çalışmamızda, eNOS genine ait rs1799983 ve rs2853796 polimorfizmlerinin PAAG ile ilişkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Sağlam bireylerde tespit ettiğimiz eNOS genine ait rs7830 polimorfizminin araştırdığımız Türk toplumunda PAAG'dan koruyucu bir faktör olabileceği düşünülmüştür. Rs7830 polimorfizminin ileride Türk toplumunda glokom taramaları için bir genetik biyomarker olarak kullanılabileceği ve benzer çalışmalara ışık tutabileceği düşünülmüştür. Konuyla ilgili daha geniş katılımlı hasta ve kontrol gruplu çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. JAMA 2014;311:1901-11.
- Cohen LP, Pasquale LR. Clinical characteristics and current treatment of glaucoma. Cold Spring Harb Perspect Med 2014;4:a017236.
- Kong X, Zhu W, Chen X, Chen Y, Sun X. Family aggregation of primary open angle glaucoma in Shanghai, China. Mol Vis 2013;19: 1859-65.
- Hewitt AW, Craig JE, Mackey DA. Complex genetics of complex traits: the case of primary open-angle glaucoma. Clin Experiment Ophthalmol 2006;34:472-84.
- Fuse N. Genetic bases for glaucoma. Tohoku J Exp Med 2010; 221:1-10.
- Karantzoulis-Fegaras F, Antoniou H, Lai SL, et al. Characterization of the human endothelial nitric-oxide synthase promoter. J Biol Chem 1999;274:3076-93.

7. Toda N, Nakanishi-Toda M. Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy. *Progress Ret Eye Res* 2007; 26:205-38.
 8. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH. et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature* 1993;364:626-32.
 9. Lin HJ, Tsai CH, Tsai FJ. et al. Distribution of oxidation enzyme eNOS and myeloperoxidase in primary open angle glaucoma. *J Clin Lab Anal* 2005;19:87-92.
 10. Kang JH, Wiggs JL, Rosner BA, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and primary open-angle glaucoma: interactions with sex and postmenopausal hormone use. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:971-9.
 11. Zakrzewski-Jakubiak M, de Denuis S, Dube MP, Bélanger F, White M, Turgeon J. Ten renin-angiotensin system-related gene polymorphisms in maximally treated Canadian Caucasian patients with heart failure. *Br J Clin Pharmacol* 2008;65:742-51.
 12. Liao Q, Wang DH, Sun HJ. Association of genetic polymorphisms of eNOS with glaucoma. *Mol Vis* 2011;17:153-58.
 13. Schmetterer L, Krejcy K, Kastner J, Wolzt M, Gouya G, Findl O, Lexer F, Breiteneder H, Fercher AF, Eichler HG. The effect of systemic nitric oxide-synthase inhibition on ocular fundus pulsations in man. *Exp Eye Res* 1997;64:305-12.
 14. Nathanson JA. Nitric oxide and nitrovasodilators in the eye: implications for ocular physiology and glaucoma. *J Glaucoma* 1993;2:206-10.
 15. Wolfs RC, Klaver CC, Ramrattan RS, van Duijn CM, Hofman A, de Jong PT. Genetic risk of primary open-angle glaucoma. Population-based familial aggregation study. *Arch Ophthalmol* 1998;116:1640-45.
 16. Ayub H, Khan MI, Micheal S, Akhtar F, Ajmal M, Shafique S, Ali SH, den Hollander AI, Ahmed A, Qamar R. Association of eNOS and HSP70 gene polymorphisms with glaucoma in Pakistani cohorts. *Mol Vis* 2010;16:18-25.
 17. Lin HJ, Tsai CH, Tsai FJ, Chen WC, Tsai SW, Fan SS. Distribution of oxidation enzyme eNOS and myeloperoxidase in primary open angle glaucoma. *J Clin Lab Anal* 2005;19:87-92.
 18. Sena DRF, Pasquale LR, Allingham RR, Hauser MA, Pericak-Vance MA, DelBono EA, Haines JL, Wiggs JL. Evaluation of NOS3 polymorphisms in patients with primary open angle glaucoma. *ARVO Annual Meeting* 2004;45:25-29.
 19. Weiss J, Frankl SA, Flammer J, Grieshaber MC, Hollo G, Teuchner B, Haefeli WE. No difference in genotype frequencies of polymorphisms of the NO pathway between Caucasian normal and high tension glaucoma patients. *Mol Vis* 2012;18:2174-81.
 20. Tunny TJ, Richardson KA, Clark CV. Association study of the 5' flanking regions of endothelial-nitric oxide synthase and endothelin-1 genes in familial primary open-angle glaucoma. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998;25:26-29.
 21. Logan JF, Chakravarthy U, Hughes AE, Patterson CC, Jackson JA, Rankin SJ. Evidence for association of endothelial nitric oxide synthase gene in subjects with glaucoma and a history of migraine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3221-26.
 22. Basturk B, Evke E, Tunali A, Karakus S. Potential risk factor of Interleukin-10 gene polymorphisms in acute myelogenous leukemia. *Turk J Haematol* 2005;22:191-96.
-