

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DEKSMEDETOMİDİNİN SEDATİF VE HEMODİNAMİK ETKİLERİ İLE
ALFA2A GEN C-1291G POLİMORFİZMİ ARARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. Seyhan YAĞAR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Bensu KARAHALİL

Ankara
Ekim 2008

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DEKSMEDETOMİDİNİN SEDATİF VE HEMODİNAMİK ETKİLERİ İLE
ALFA2A GEN C-1291G POLİMORFİZMİ ARARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. Seyhan YAĞAR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Bensu KARAHALİL

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
02/2005-13 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ankara
Ekim 2008

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Resimler, Şekiller, Grafikler	III
Tablolar	IV
Önsöz	V
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	4
II.1. Farmakogenetik	4
II.2. Genetik Polimorfizm	5
II.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	7
II.3.1.PCR İçin Kritik Parametreler	9
II.3.1.1. MgCl ₂ konsantrasyonu	9
II.3.1.2. Reajan saflığı	10
II.3.1.3. Primer seçimi	10
II.3.1.4. DNA kalıbı	10
II.3.1.5. Taq ve diğer ısıya dayanıklı polimerazlar	11
II.4. Endonükleaz kesimi ile mutasyon saptanması	12
II.5. Adrenerjik Reseptör (AR) ler	13
II.5.1. α_2 -Adrenerjik Reseptörler (α_2 -AR)	16
II.5.1.1. α_{2A} - Adrenerjik Reseptörler (ADRA2A)	17
II.5.1.2. α_{2A} - Adrenoreseptör Gen Polimorfizmi	20
II.5.1.3. ADRA2A C-1291G Polimorfizmi	22
II.6. Deksmetomidin	25
II.6.1. Farmakokinetik Özellikleri	26
II.6.2. Farmakodinamik Özellikleri	27

II.6.2.1. Anksiyolizis ve Sedasyon	27
II.6.2.2. Analjezik Etkileri	28
II.6.2.3. Solunum Sistemi Üzerindeki Etkileri	28
II.6.2.4. Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri	29
II.7. Ramsay Sedasyon Skalası	30
II.8. Bispektral İndeks (BIS)	31

III. GEREÇ ve YÖNTEM 34

III. 1. Hasta Seçimi	34
III. 2 . Çalışma Protokolü	35
III. 3. Genetik Analiz	36
III. 3. 1. DNA İzolasyonu	36
III. 3. 1. 1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
III. 3. 1. 2. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler	37
III. 3. 1. 3. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Aletler	37
III. 3. 1. 4. Deneyin Yapılışı	38
III. 3. 2. DNA Örneklerinin PCR'a Uygulanması	39
III. 3. 2. 1. ADR2A C-1291G için PCR' da Kullanılan Kimyasal Maddeler	39
III. 3. 2. 2. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Aletler	39
III. 3. 2. 3. DNA Amplifikasyonu için Kullanılan Çözeltiler	40
III. 3. 2. 4. Örneklerin ADRA2A Amplifikasyonu için PCR'a Uygulanması	40

III. 3. 3. PCR Ürünlerinin Jele Uygulanması	41
III. 3. 3. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
III. 3. 3. 2. Kullanılan Aletler	42
III. 3. 3. 3. Kullanılan Çözeltiler	42
III. 3. 3. 4. Jelin Hazırlanması	43
III. 3. 3. 5. PCR Örneklerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez	43
III. 3. 4. ADRA2A C-1291G Genotipinin Belirlenmesi	44
III. 3. 4. 1. ADRA2A Digest'inde Kullanılan Kimyasal Maddeler	44
III. 3. 4. 2. ADRA2A Digest'inde Kullanılan Aletler	44
III. 3. 4. 3. ADRA2A Reseptörünün MspI (Hpa II) ile Kesilmesi	44
III. 3. 4. 4. ADRA2A Digest Ürünlerinin Jele Uygulanması	45
III. 3. 4. 4. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	45
III. 3. 4. 4. 2. Kullanılan Aletler	45
III. 3. 4. 4. 3. Kullanılan Çözeltiler	45
III. 3. 4. 4. 4. Jelin Hazırlanması	45
III. 3. 4. 4. 5. Digest Ürünlerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez	45
III. 3. 4. 4. 6. ADRA2A Genotipinin Belirlenmesi	46
III. 4. İstatistiksel Analiz	47

IV. BULGULAR 48

IV. 1. Hastaların Karakteristik Özellikleri	48
---	----

IV. 2. ADRA2A C-1291G Genotip Analizleri	49
IV. 3. Genotipe Göre Karakteristik Özellikler	51
IV. 4. Hemodinamik Veriler	54
IV. 5. Sedasyon Verileri	56
IV. 6. İlaç Dozları	59
V. TARTIŞMA	60
VI. SONUÇ	68
VII. ÖZET	69
VIII. SUMMARY	71
IX. KAYNAKLAR	73
X. EKLER	93
XI. ÖZGEÇMİŞ	94

Resim, Şekil, Grafik ve Tablolar

Resimler

Resim1. α_2 -adrenerjik reseptörlerin aracılık yaptığı cevaplar.

Resim2. Deksmetomidinin reseptör düzeyinde etki mekanizması.

Resim3. BİS monitörünün görünüşü.

Resim4. BİS monitörü ile monitörize edilmiş bir hasta.

Resim5. İkiyüzonaltı baz çiftlik PCR ürünleri.

Resim 6. Restriksiyon enzimi ile oluşan kesim ürünleri.

Şekiller

Şekil 1. Standard bir PCR işleminin basamakları.

Şekil 2. Adrenerjik reseptör ailesi.

Şekil 3. Adrenalin ve noradrenalinin kimyasal yapısı.

Şekil 4. İnsan ADRA2A geninin tüm dizgisi.

Şekil 5. İntronsuz insan α_{2A} -adrenoseptör gen polimorfizmlerinin organizasyonu.

Şekil 6. Deksmetomidinin kimyasal yapısı.

Tablolar

Tablo 1. İnsan α_{2A} -AR genindeki polimorfizmler.

Tablo 2. Farklı toplumlardaki C-1291G polimorfizmi genotip yüzdeleri ve allel frekansları.

Tablo 3. Ramsay sedasyon skalası.

Tablo 4. BİS düzeyi ve klinik durum, EEG'nin esas özelliği.

Tablo 5. Hastaların demografik verileri.

Tablo 6. Hastaların ek patolojileri ve alışkanlıkları.

Tablo 7. ADRA2A C-1291G genotip dağılımı.

Tablo 8. Hastaların genotipe göre demografik verileri.

Tablo 9. Hasta grubu ve kontrol grubunun genotipe göre demografik verileri ve ek hastalıkları.

Grafikler

Grafik 1. Grupların ortalama sistolik arter basınçlarının zamana göre değişimi.

Grafik 2. Grupların ortalama diastolik basınçlarının zamana göre değişimi.

Grafik 3. Grupların ortalama nabız değerlerinin zamana göre değişimi.

Grafik 4. Grupların Ramsay skoru ortalamalarının zamana göre değişimi.

Grafik 5. Grupların BIS değeri ortalamalarının zamana göre değişimi.

Grafik 6. Grupların ilaç doz ortalamaları.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince gösterdiği sabır, sunduğu çaba, verdiği bilgiler ve sınırsız özverisiyle hep yanımda olan, her konuda yardımlarını benden esirgemeyen, sevgi ve saygı duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Bensu KARAHALİL'e,

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. Ali Esat KARAKAYA'ya, Prof. Dr. Sema BURGAZ'a, Prof. Dr. İsmet ÇOK'a ve Doç. Dr. Neslihan AYGÜN KOCABAŞ'a,

Doktora eğitimim süresince bilgilerini, yardımlarını benden esirgemeyen, her sıkıştığım da yanımda olan sevgili arkadaşlarım Dr. Ecz. Gonca ÇAKMAK DEMİRCİGİL'e, Uzm. Ecz. Ela KADIOĞLU'na, Uzm. Ecz. Erdem COŞKUN'a , Uzm. Ecz. Emre DURMAZ'a, Uzm. Ecz. Ayşe Başak ENGİN'e ve Uzm. Ecz. Onur Kenan ULUTAŞ'a,

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince manevi desteğiyle yanımda hissettiğim Menekşe Keski'ye,

Tez çalışmamın klinik bölümünde hep yanımda olan Op. Dr. Soner Yavaş'a,

Beni bugünlere taşıyan sevgili aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

I.GİRİŞ

Genetik faktörlere bağlı olarak, bireylerin çevresel kontaminantlara, ilaçlara, mesleksi ve bireysel alışkanlıklar (sigara, alkol gibi) sonucu maruz kalınan kimyasal maddelere verdiği cevap genetik predizpozisyon ile tanımlanmaktadır. İlaçlar dahil olmak üzere organizmaya giren yabancı bütün kimyasalları metabolize eden enzimlerin, ilacın hedef moleküllerinin etkinliğinin ve bunun sonucu olarak oluşan cevabın bireysel farklılık göstermesi ile ilgili yapılan çalışmalar farmakogenetik/ farmakogenomik olarak adlandırılmaktadır. İlaç metabolizması ve ilaç etkileri alanında hızla artan araştırmalar genlerin çok geniş değişkenlik gösterebileceğini ve daha da önemlisi, bu değişikliklerin farmakolojik, fizyolojik ve toksikolojik özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Günümüzde kabul gören hipotez; nörotransmitter ve ilaç reseptörlerinde mevcut olan polimorfizmlerin, fenotipe alınan farmakolojik cevap ve hastalıklara yatkınlıkta görülen bireysel farklılıkların altında yatan sebep olduğudur^{1,2,3}.

Birçok organ sisteminin anahtar düzenleyicisi olan adreseptörler; reseptör polimorfizmi, ilaç cevabı ve hastalık duyarlılığı ve hastalıktaki ilerleme arasındaki ilişkiyi açıklamak için önemli bir sistemdir⁴. Adrenerjik reseptörler, endojen katekolaminler ve ekzojen farmakolojik ajanlar için önemli hedef moleküllerdir. Farmakolojik ve moleküler klonlama çalışmaları sonucunda, 9 farklı tipte adreseptör alttipi (subtip) tanımlanmıştır. Adrenerjik reseptörler α_1 , α_2 , ve β olmak üzere üç ana kategoride incelenirler. Bu 3 ana kategorinin de her biri alt gruplara sahiptir: i) α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} ii) α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} iii) β_1 , β_2 , β_3 . Adreseptörler hücre membranında yer alan reseptörlerdir ve adrenalin

ile noradrenalin periferde ve santral sinir sisteminde etki gösteren iki önemli nörotransmitterdir ^{5,6,7}. Adrenoseptörler hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, anjina pectoris, kardiyak aritmiler, astım, depresyon, prostat hipertrofisi, nazal konjesyon, obezite, glokom ve ağrı gibi birçok hastalığın hedefi durumundadırlar ⁴. β -adrenerjik reseptörler lipid mobilizasyonunda da rol oynamaktadırlar ve β - adrenerjik reseptörler lipolizi stimule ederken α -adrenerjik reseptörler G-proteinleri aracılığıyla lipolizi inhibe ederek obeziteye de katkıda bulunmaktadır ^{8,9}. α_{2A} -AR reseptör genindeki polimorfizm nedeniyle reseptörün ekspresyonundaki değişme ile şizofreniye duyarlılık arasında ilişki olduğu gösterilmiştir¹⁰. Diğer taraftan, α_{2A} -AR gen polimorfizmi ve ilaca cevap arasında ilişkiyi gösteren çalışmalar vardır. α_{2A} -AR gen polimorfizmi ile hiperaktivite bozukluğu nedeniyle metilfenidat tedavisi gören bireylerde metilfenidatın etkinliği ile polimorfizm arasında ilişki olduğu gözlenmiştir¹¹. Hastalıkların tedavisi ve bireylerin yaşam kalitesini yükseltmek için farmakogenetik uygulamaların artırılması gerekmektedir.

α_{2A} -AR geni 10. kromozomun q23-q25 bölgesinde lokalizedir¹² ve santral sinir sisteminde en yaygın bulunan adrenoseptör tipidir¹³. Deksmetomidin, α_2 -adrenoseptörlere alt tiplere seçici olmadan yüksek afinitesi olan, α_1 -adrenoseptör üzerinde ihmal edilebilir bir etkisi olan bir α -metilol türevidir. Klinikte özellikle yoğun bakımda sedatif amaçla, bunun yanında genel anestezi öncesi premedikasyonda, tanı koydurucu veya tedavi edici işlemler sırasında sedasyon sağlama amaçlı kullanılmaktadır¹⁴. α_{2A} -adrenoseptörler kodlama ve kodlama bölgesi dışında gösterdiği genetik varyasyonlarla polimorfiktir. α_{2A} -AR geni promoter bölgesi 1291. nükleotid sırasında sitozin (C)'in, guanin (G)'e substitüsyonu ilk olarak 1997 yılında Lario ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir. Nükleotiddeki bu substitüsyon amino asit substitüsyonunda bir değişikliğe neden olmamaktadır ve hücresel düzeydeki etkisi de henüz bilinmemektedir ¹⁵. Deksmetomidin bu reseptör üzerinden etki gösteren

bir ilaç olduğu için reseptördeki varyasyon ilacın etkinliğinde bireysel farklılığa neden olabilir. Bu nedenle klinikte kullanılırken ilacın bireyselleştirilmesi gerekmektedir.

İnsan genom projesi ve genetik çalışmalarda kullanılan teknolojinin hızla gelişmesiyle gen polimorfizmleri ve polimorfizmlerin hastalık gelişimi ve ilaçların farmakolojik etkilerine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu anlamda α_{2A} -adrenoseptör polimorfizmi ve agonistik ajan olan deksmedetomidinin etkinliği arasındaki bağlantıyı araştıran bir klinik çalışma dünya literatüründe mevcut değildir. Bu çalışmanın ilacı bu yönden değerlendiren ilk çalışma olması yönüyle dünya literatürü açısından değerli bir çalışma olacağı kanısındayız. Çalışmadan alınan sonuç, klinikte pratiğe geçirilebilecek ve hastanın genetik alt yapısına yönelik olarak doz ayarlaması yapılarak yüksek dozda mortaliteye neden olabilecek ilaca bağlı komplikasyonlardan veya düşük dozda analjezi ve sedasyon yetersizliğinin önüne geçilmiş olunacaktır.

Bu çalışmada,

- α_2 -adrenoseptör agonisti olan deksmedetomidinin farmakolojik etkilerini (sedasyon, analjezi, relakse olma gibi) göstermesinde aracılık eden α_{2A} -adrenoseptörlerin genotiplerinin belirlenmesi,
- klinikte kullanılan deksmedetomidine yanıt olan fenotipin genotiple korelasyonunun yapılması,
- reseptörleri kontrol eden genlerdeki polimorfizm ile hemodinamik parametreler arasındaki bağlantının ortaya çıkarılması,
- ADRA2A gen C-1291G polimorfizmi ve hipertansiyon,
- ADRA2A gen C-1291G polimorfizmi ve glukoz metabolizması,

- ADRA2A gen C-1291G polimorfizmi ve lipid metabolizması bozuklukları riski arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

I. GENEL BİLGİLER

II. 1. Farmakogenetik

Günümüzde bir ilacın klinik kullanımı sırasında, ilacı reçete eden hekim hastasının ilaca vereceği bireysel cevabı tahmin edememektedir. Hastaların bir kısmı ilaçtan yeterince faydalanamazken, bir kısmında beklenmeyen yan etkiler ortaya çıkabilmektedir. Dolayısıyla, bir ilacı reçete etmek deneysel bir çaba veya hatalı bir işlemdir denebilir ve sıklıkla da ilacın değiştirilmesi ve/veya doz ayarlanmasına gidilmektedir².

İlaç etkisindeki kalıtsal farklılıklar ilk olarak 1950’lerde ilaç metabolizması konusunda tespit edilmiştir. Yeni oluşan bu çalışma sahası ilaç tedavisi ve genetik değişiklikler arasındaki ilişkiyi araştıran bir bilim dalının “farmakogenetiğin” ortaya çıkmasına yol açmıştır. Farmakogenetik terimi ilk olarak Motulsky ¹⁶ (1957) ve Vogel ¹⁷ (1959) tarafından ilaçlara cevaptaki farklılıkların genetik farklılıklarla bağlantısı düşünülerek ortaya atılmıştır. Zamanla yalnızca ilaç metabolizasyonunda değil ilacın tüm yolağında (emilim, dağılım, metabolizma, atılım) ve ilacın hedefi olan bölgelerde de genetik farklılıklar olduğu anlaşılmış ve farmakogenetiğin çalışma sahası daha da genişlemiştir ^{18,19,20}.

Farmakokinetik ve farmakodinamik ilacın doz-cevap ilişkisindeki anahtar bölümlerdir. Farmakogenetik faktörler bir ilacın doz-cevap eğrisinin hem farmakokinetik hem de farmakodinamik düzeyindeki komponentlerini etkileyerek eğriyi değiştirebilirler. İlacı metabolize eden enzimler, taşıyıcılar veya ilacın hedefindeki polimorfizmler bireyler

arasındaki doz-cevap eğrilerindeki ilişkiyi önemli şekilde değiştirebilirler. Bu farklılıklar; ilacı metabolize eden enzimler veya çeşitli ilaç hedeflerindeki farmakolojik cevapsızlık genetik veya genetik dışı faktörlerle gelişebilmektedir. Genetik faktör olarak farklı aleller bulunması ilaca cevapta büyük değişikliklere neden olmaktadır. Diğer değişkenler ise genellikle ilaç geliştirilmesi sırasında fark edilebilirler; yaş, cinsiyet, beraber ilaç kullanımı, renal veya hepatik disfonksiyonlar gibi eşlik eden hastalıklar bulunmasıdır ^{21,22}.

Genetik değişiklikler birçok şekilde bulunabilir: tek nokta mutasyonu (SNP: single nucleotide polymorphism) en sık gözlenen şeklidir. İnsan genomunda yaklaşık 30 000 farklı gen mevcuttur. Toplam 3,12 milyon nükleotid olduğu ve SNP oluşma frekansının iki birey arası 1/1250 bp olduğu hesaba katılırsa iki birey arasındaki SNP sayısının 2,5 milyon olduğu sonucuna ulaşılır. İnsan genomunda yaklaşık 15 milyon SNP bulunduğu tahmin edilmektedir¹. SNP, DNA sekansındaki bir baz çiftindeki değişiktir. Oluşturduğu proteinde fonksiyonel veya miktar bazında değişikliğe yol açabilir ya da açmayabilir ³.

İnsanda genetik polimorfizm gösteren enzimler ve reseptörlerin tedavi sürecinde bilinmesi tedavinin uygunluğunu sağlama açısından önemli olabilir; bu bilgi terapötik yanıtın öngörülmesine veya tedavinin bireyselleştirilmesine olanak sağlayabilir ²³. Günümüzde klinik uygulaması çok sınırlı alanda (antikanser ajanlar, bazı antidepresanlar, varfarin gibi) kalmakla birlikte yeni farmakogenetik ilişkiler açıklandıkça pratikteki kullanım alanı da genişleyecektir.

II. 2. Genetik Polimorfizm

Genetik polimorfizm, bir populasyonda, genetik olarak belirlenmiş farklı allellere bağlı olarak iki veya daha çok alternatif fenotipin

görülmesidir. Eğer bir lokustaki allel frekansı en az 0.01 ise ve bu alleli taşıyan heterozigotların frekansı %2'den büyükse bu gen lokusuna polimorfik denebilir. Proteinleri kodlayan gen lokuslarının en az 1/3'ünün polimorfik olduğu saptanmıştır ²². Farklı bir tanımla, toplumlarda normal kişilerde genomik DNA'nın tek baz çiftlik pozisyonunda farklı sekans alternatiflerinin (allel) bulunmasıdır. Toplumda % 1' den daha sık gözlenen DNA varyasyonlarına polimorfizm adı verilebilir ²⁴.

DNA polimorfizmleri; mutasyon sonucu ortaya çıkarlar ve Mendel kurallarına göre aktarılırlar. Genlerin protein kodlayan ve kodlamayan bölgelerinde meydana gelebilir.

DNA polimorfizm tipleri:

- Tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotide Polymorphism, SNP)
- Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism-RFLP)
- Minisatellit (Variable Number of Tandem Repeats, VNTR)
- Mikrosatellit (Short Tandem Repeats, STR) ²⁵.

Tüm genomda en sık gözlenen genetik polimorfizm tipi SNP' tir. Polimorfizmlerin en basit tipi olan SNP' te tek baz mutasyonu mevcuttur ve bir nükleotidin yerini bir başkası alır ^{26, 27}.

İlgili bölgeyi içeren DNA parçasının uygun restriksiyon enzimiyle kesilmesi sonucu alleller veya varyantlar değişik boyutlarda parçalar oluşmasına neden olur. Bu parçalar elektroforez yöntemiyle görüntülenir, bu tip polimorfizmler RFLP olarak adlandırılırlar ²⁸.

Mikrosatellit, kısa tekrarlayan nükleotid sekanslarının blok halinde değişmesidir. Örneğin CA tekrarı üç (5'-CACACA-3') veya beş (5'-CACACACACA-3') kez tekrarlanabilir. Minisatellit de ise 20-500 baz çiftlik

tekrarlayan üniteler mevcuttur. Bu iki tip genellikle genin non-koding bölgesinde ortaya çıkar²⁹.

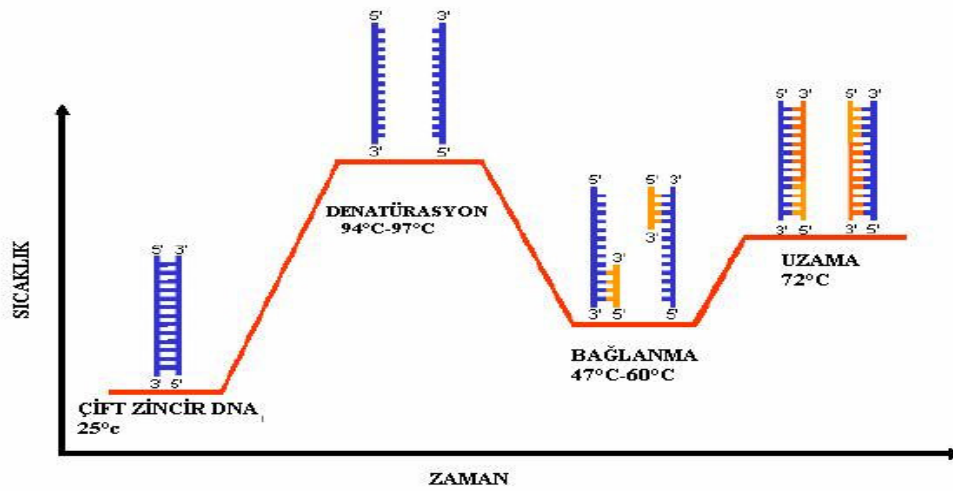
II. 3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR; modern biyoloji alanında yapılmış en önemli teknolojik gelişmelerden biridir. İlk olarak 1985 yılında Kary Mullis tarafından geliştirilmiş bir yöntemdir^{30,31}. Teknik zorluklar nedeniyle yaygın kullanım alanı bulması ancak 1988’lerde ısıya dayanıklı *Thermus aquaticus*’tan (Taq) elde edilen DNA polimerazın keşfi ile mümkün olmuştur³².

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR); in vitro olarak spesifik bir DNA sekansını DNA amplifikasyonunu kullanarak miktar olarak artırmaya yarayan, yaygın kullanım alanı bulmuş bir prosedürdür. Bu metod ile in vitro koşullarda belirli bir DNA segmenti tek bir orjinal kopyadan milyonlarca kez çoğaltılabilir ve böylece örneğin bir mutasyonun belirlenmesi gibi araştırmalar için yeterli miktar sağlanabilir. PCR için en önemli unsur amplifikasyonu hedeflenmiş olan DNA sekansına bitişik karşı zincirdeki bölgeyi tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primerin olmasıdır (genellikle her biri 20 nükleotidden oluşmaktadır). DNA örneğine eklendikten sonra, primerler birbirlerine doğru yönlendirilmiş 3’-hidroksi sonlarına sahip olmalıdırlar. Hedef DNA sekansı 100 ile 35,000 bp (baz çifti) uzunluğunda olabilir. PCR için ikinci gerekli unsur 95° C veya daha yüksek derecelere aktivitesini kaybetmeden direnebilen termostabl (ısıya dayanıklı) DNA polimerazdır. Yöntemin Polimeraz Zincir Reaksiyonu diye adlandırılmasının sebebi de bir dizi DNA polimeraz reaksiyonları içermesidir^{33,34}.

Tipik bir PCR işlemi belirli birkaç siklustan oluşmaktadır. Her siklus kesin zamanlamalı, her biri diğerine bağlı ve farklı sıcaklıklar gerektiren üç ardışık reaksiyondan oluşmaktadır:

- DNA denatürasyonu
- DNA renatürasyonu
- DNA sentezi³⁵.



Şekil 1: Standart bir PCR işleminin bölümleri.

PCR amplifikasyon sisteminin ilk adımı DNA örneğinin reaksiyon tüpünde ısısının 95°C'ye kadar yükseltilmesini içeren termal denatürasyondur. Bu basamakta, amplifiye edilecek DNA parçası ısıyla çift sarmal DNA yapısından, tek zincir olacak şekilde (ssDNA) denatüre olur. Bunlar yeni sentezlenecek DNA'lar için kalıp görevi görürler. Reaksiyon tüpünde DNA kaynağına ek olarak çok fazla miktarda oligonükleotid primerler, ısıya dayanıklı DNA polimeraz (Ör; *Taq* DNA polimeraz, *Thermus aquaticus* bakterisinden elde edilir), 4 deoksiribonükleotid dATP, dCTP, dGTP ve dTTP de bulunmalıdır. Ulaşılan ısı yaklaşık bir dakika kadar korunmalıdır. İkinci adım için ısı yavaş bir şekilde 55°C'ye iner.

İkinci adım sırasında primerler örnek DNA sekansındaki tamamlayıcıları ile çift oluştururlar. Bu basamakta primerleri oluşturan bazlar esas alınarak bulunan T_m (erime noktası) değerine göre bağlanma ısı belirlenir.

Üçüncü adımda; ısı 75°C civarına yükselir bu ısı *Taq* DNA polimerazın enzimatik fonksiyonu için optimal ısı derecesidir. DNA polimeraz; ssDNA kalıbına ve nükleotidlere ihtiyaç duyar. DNA sentezi her primerin 3'-hidroksi ucundan olmak üzere başlatılır. Bu üç basamağın bitiminde bir siklus tamamlanır^{36, 37}.

Reaksiyona giren primer, dNTP, MgCl_2 konsantrasyonu ve DNA miktarı reaksiyonun etkinliğini ve doğruluğunu doğrudan etkiler. Bunun yanında siklus sayısı da PCR işleminin verimliliğinde etkilidir. PCR cihazında sikluslardaki adımların süreleri ve ısı değişiklikleri bilgisayar kontrolündedir ve programlanabilir.

Önemli birçok değişken PCR'ın sonucunu etkiler. MgCl_2 konsantrasyonunun dikkatli titrasyonu kritiktir. Polimerazın stabilitesini ve işlenebilirliğini veya hibridizasyonun sıklığını arttıran katkı maddeleri, ve nonspesifik primer kalıp etkileşimlerini azaltan stratejiler, özellikle kritik olan ilk siklustan önce, genellikle amplifikasyonun etkinliğini arttırırlar³⁸.

II.3.1. PCR için kritik parametreler

II.3.1.1. MgCl_2 konsantrasyonu

Optimum MgCl_2 konsantrasyonunu saptamak, kalıbın aynı bölgesi için verilmiş farklı primerlerde dahi değiştiği için³², PCR'ın başarısı üzerinde ciddi bir etkiye sahiptir. MgCl_2 konsantrasyonu, primerlerin bağlanmasını, her iki DNA sarmalının ve PCR ürününün ayrılma

sıcaklığını, ürün özelliğini, primer-dimer oluşumunu, enzim aktivitesini etkilemektedir ³⁹.

II.3.1.2. Reaktif saflığı

Nadir bulunan kalıpların amplifikasyonu için reaktif saflığı en önemli parametredir, her basamakta kontaminasyondan kaçınmak gereklidir. Bu amaçla, reaktifler küçük porsiyonlar halinde vidalı plastik kaplarda saklanmalıdır ³⁸.

II.3.1.3. Primer seçimi

Primer seçimi, optimizasyonu oldukça zor faktörlerden biridir. Optimal primer ilgili sekansın etkili hibridizasyonunu sağlamalıdır. Primerler arasındaki mesafe değiştirilebilir olmakla beraber 10 kb civarındadır. Sentezin etkinliği için önerilen mesafe >3 kb 'dır ⁴⁰. Primerler arası mesafe kısaldığında sekans bilgisinin tam alınmasını engelleyebilir, ya da internal oligonükleotidlerin reamplifikasyonuna neden olabilir.

Bir primerin uzunluğu 20-30 baz uzunluğunda olmalıdır. Primerler kalıba uygun şekilde GC içerecek şekilde seçilmelidir, sık karşılaşılmayan sekans dağılımlarından kaçınılmalıdır. "Primer-dimerler"; az miktardaki DNA kalıbının birçok amplifikasyon siklusuna girmesi sonucu sık oluşan istenenden farklı olan ürünlerdir. Bir primerin 3' ucu diğer primerin 3' ucuna bağlandığında, polimeraz her primeri diğerinin sonunda uzattığında primer-dimerler oluşur. Primer-dimer oluşumundan kaçınmak için primerlerin özellikle 3' uçlarından birbirini tamamlayıcı olmamalarına dikkat edilmelidir ³⁸.

II.3.1.4. DNA kalıbı

DNA kalıbı için en önemli iki özellik; saflık ve miktardır. DNA hazırlanması sırasında bulunan birçok kontaminant PCR'ın etkinliğini azaltır. Kontaminasyon kaynakları olarak; üre, SDS deterjanı (baskılayıcı etkisi noniyonik deterjanlarla geriye çevrilebilir), sodyum asetat, agaroz jel sayılabilir³⁹. Ek organik ekstraksiyonlar, etanol presipitasyonu, agaroz yerine poliakrilamid jel kullanımı gibi basit önlemlerle kontaminasyonlardan kaçınılabılır.

Kalıp miktarı etidyum bromür ile PCR ürününün gözlenebilmesine yetecek kadar olmalıdır. Genellikle 100 ng genomik DNA tek kopya memeli geninden PCR ürünü elde etmeye yeterlidir. MgCl₂ ve diğer parametreler optimize edildiğinde kalıp miktarını arttırmak önerilmez. Hatta kalıp miktarı arttırıldığında saf olmadığı durumlarda kontaminant miktarı da artacağından etkinliği azaltacaktır³⁸.

II.3.1.5. Taq ve diğer ısıya dayanıklı polimerazlar

Taq DNA polimerazın ısıya dayanıklı olması avantajları içinde sayılmakla birlikte, asıl önemli özelliği PCR'ın gerektirdiği tekrarlayan ısınma ve soğumalara karşı da dayanıklı olmasıdır. Bu enzim, elbette ısıtılmaya karşı sonsuza dek dayanıklı değildir. Bu nedenle gerek duyulmayan denaturasyon basamaklarına sokulmamalıdır. Bazı protokollerde (ör: sıcak başlangıç) ilk denaturasyon basamağından sonra eklenmektedir.

Taq DNA polimeraz miktarını 2,5 U/reaksiyon düzeyinin üzerine çıkarmak bazı durumlarda PCR etkinliğini arttırabilir, ancak duruma göre. Daha fazla enzim eklemek bazen istenen ürünü değil de

nonspesifik PCR ürünü miktarını arttırabilir. Ayrıca enzim ucuz da sayılmaz.

Taq DNA polimerazın önemli bir özelliği de hata oranıdır, ilk olarak 2×10^{-4} nükleotid/siklus olarak hesaplanmıştır ³². Firmalar tarafından sağlanan enzim hataları tespit eden 3'→5' ekzonükleaz aktivitesinden yoksundur. Klenow fragman *E. Coli* DNA polimeraz l'de ise hata oranı daha düşüktür. Birçok uygulamada bu durum güçlük yaratmamaktadır ³⁸.

II.4. Endonükleaz Kesimi İle Mutasyon Saptanması

PCR ile çoğaltılmış genetik sinyalin hangi şifreyi taşıdığı doğrudan dizi analizi (sekanslama) ile saptanabilir. Ancak farmakogenetik çalışmalarda amaç genelde daha önce saptanmış bir mutasyonun (çoğu kez tek nükleotid polimorfizmi "SNP") geniş toplum örneklerinde taranması ve ilaç etkisi-SNP ilişkisinin incelenmesidir. Tek nokta mutasyonlarının saptanmasında restriksiyon endonükleazların kullanılması uygulama kolaylığı, temel laboratuvar aygıtlarının yeterli olması ve görece ucuzluğundan dolayı sık tercih edilen bir yöntemdir.

Bu yöntemde, PCR ile çoğaltılan bölge içerisinde kalan bir noktada bulunan tek baz değişimi (örneğin 100 bireyde saptanan guaninin yerini bir başka 10 kişide timinin alması) o bölgenin spesifik bir restriksiyon enzimi ile tanınmasını sağlar. Kesim reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin agaroz jel üzerinde yürütülmesinden sonra oluşan bant paterni incelenerek bireyde mutasyon olup olmadığı saptanabilir.

Ticari olarak sağlanan yüzlerce restriksiyon enzimi bulunur. Bu enzimler de *Taq* polimeraz gibi gliserol içeren tamponlarda ve – 20°C'de saklanmalıdır. Enzimin çalışma tamponları da enzimle birlikte genelde 10X konsantrasyonunda sağlanır. Genelde 10-20 mikrolitre PCR

ürününün 1 mikrolitre (4-5 Ü) endonükleaz varlığında en az beş saat uygun sıcaklıkta inkübasyonu kesimin tamamlanması için yeterli olur.

Reaksiyon tüpündeki tüm bileşenlerin (PCR ürünü, enzim, tampon çözelti ve distile su) pipet ucu yardımıyla 5-10 kez çekilerek karıştırılması kesim işlemiyle doğru genotiplleme sonucu alınması açısından önemlidir^{41,42}.

II.5. Adrenerjik Reseptör (AR) ler

Transmembran reseptör sistemi olan adrenerjik reseptörler, primer sempatik nörotransmitter olan noradrenalin ve primer adrenal medullar hormon (ve santral nörotransmitter) olan adrenalin katekolaminlerinin santral ve periferik etkilerinin meydana gelmesinde aracılık eden reseptör sistemidir. Haberci katekolaminlerin (Adrenalin veya noradrenalin) her ikisi de tüm vücutta yaygın bir şekilde bulunurlar ve kardiyovasküler, solunumsal ve nöronal fonksiyonlar, sindirim, pupil dilatasyonu ve kontraksiyonu, enerji metabolizması ve endokrin fonksiyonlar gibi çok çeşitli fizyolojik sistemlerde önemli rol alırlar. Katekolaminler gibi AR'ler de nöronal ve non-nöronal dokularda yaygın olarak yerleşmişlerdir ve birçok hastalığın tedavisi için hedef reseptörlerdir^{5, 43}.

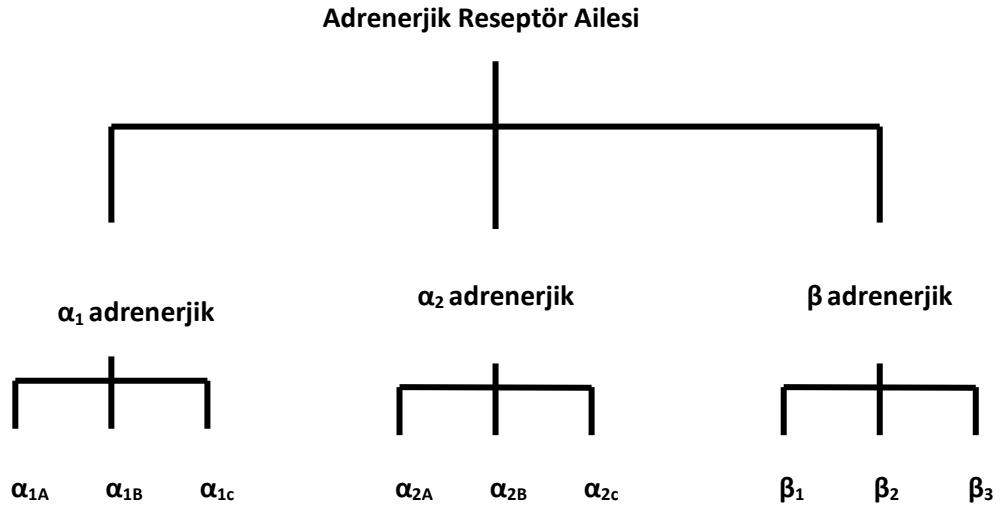
1937 yılında Cannon ve Rosenblueth organizmada bulunan iki nörotransmitter veya endojen mediyatöre uyarıcı ve baskılayıcı cevaplar oluşmasını temel alarak bir hipotez öne sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar 'Simpatina E' medyatörünün adrenerjik uyarıcı cevaplardan, 'Simpatina I' medyatörünün ise adrenerjik baskılayıcı cevaplardan sorumlu olduğu kanısına varmışlardır⁴⁴. Yüzyıldır bilinen gerçek bazı adreno reseptör stimülasyonlarının klasik adreno reseptör antagonistlerine (ergot alkaloidleri veya β -haloalkilaminler gibi) duyarsız olduğudur^{45,46}.

Asetilkolin etkilerini nikotinik ve muskarinik olarak ayıran sınıflandırmaya benzer tarzda bir alt sınıflandırma semptomimetik aminlerin etkileri için “uyarıcı” ve “baskılayıcı” olarak yapılabilir. Ancak bu kalitatif sınıflandırma AR alttiplerini tanımlamada faydalı olmamıştır. Bu kalitatif sınıflandırmanın aksine Ahlquist 1948 yılında kantitatif yaklaşımla iki farklı AR alttipi olduğu önerisini ortaya atmıştır. Bu sınıflandırmayı doğal ve yapısal olarak benzer sentetik agonistlere farklı dokulardaki cevap potensindeki sıralamayı dikkate alarak yapmıştır⁴⁷.

AR’ler 1948’den bu yana farmakolojik karakteristiklerine göre α ve β olarak iki sınıfa ayrılırlar ^{47,48}. Günümüzde ise 3 majör adreno reseptör tipi vardır; α_1 , α_2 ve β . 1970’ lerde presinaptik α -AR’lerin tanınmasıyla pre- ve postsinaptik α -AR’lerin farmakolojik karakterlerinin farklı olduğu da açıkça ortaya koyulmuştur ^{49,50}. Langer’in önerisiyle pre- ve postsinaptik α -AR’ler sırasıyla α_2 ve α_1 olmak üzere adlandırılmıştır ⁵⁰. Agonist ve antagonistlerle bu reseptörlerin etkileşimlerini inceleyen araştırmalar bu sınıflandırmanın anatomik bir sınıflandırmadan çok fonksiyon sınıflandırması olduğunu göstermiştir ⁵¹. Sonuçta; potent ve yüksek selektivite gösteren agonist ve antagonistlerin geliştirilmesiyle ve onlarla yapılan çalışmalarla yönlendirilen bu sınıflandırmanın farmakolojik bir sınıflandırma olduğu ispatlanmıştır ⁵².

α_1 -Adrenerjik reseptör (AR) tipi genellikle efektör organlardaki cevaplara aracılık eder. α_2 -Adrenerjik reseptör (AR) tipi presinaptik olarak yerleşim gösterir ve nörotransmitter salınımını düzenler ancak, postsinaptik olarak da yerleşim gösterebilir. Her grup kendi içinde üç alt gruba ayrılmaktadır. Kabul gören adrenerjik reseptör alttipleri son beş yıl içinde belirgin bir şekilde artmıştır. İlk olarak fonksiyon ve bağlanma çalışmalarıyla farmakolojik olarak gösterilen alttipler, daha sonra klonlama metodlarıyla ayırt edilmiş ve tanımlanmışlardır. Tarihi olarak α -AR ve β -AR olmak üzere sınıflandırılma yapılmakla birlikte son

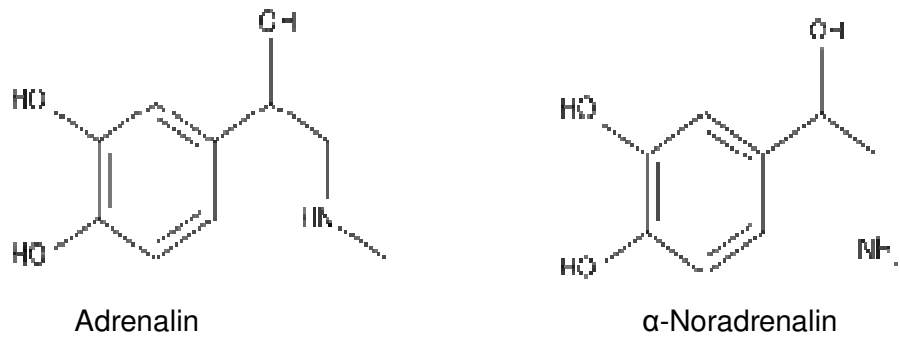
yıllarda α_1 -AR, α_2 -AR ve β -AR olmak üzere üç majör gruba ayırmanın daha kullanışlı olduğu kabul görmüştür ⁷.



Şekil 2. Adrenerjik reseptör sınıflandırması

Hiç şüphe yoktur ki farklı reseptör alttipleri farklı genler tarafından kodlanmaktadır⁵³.

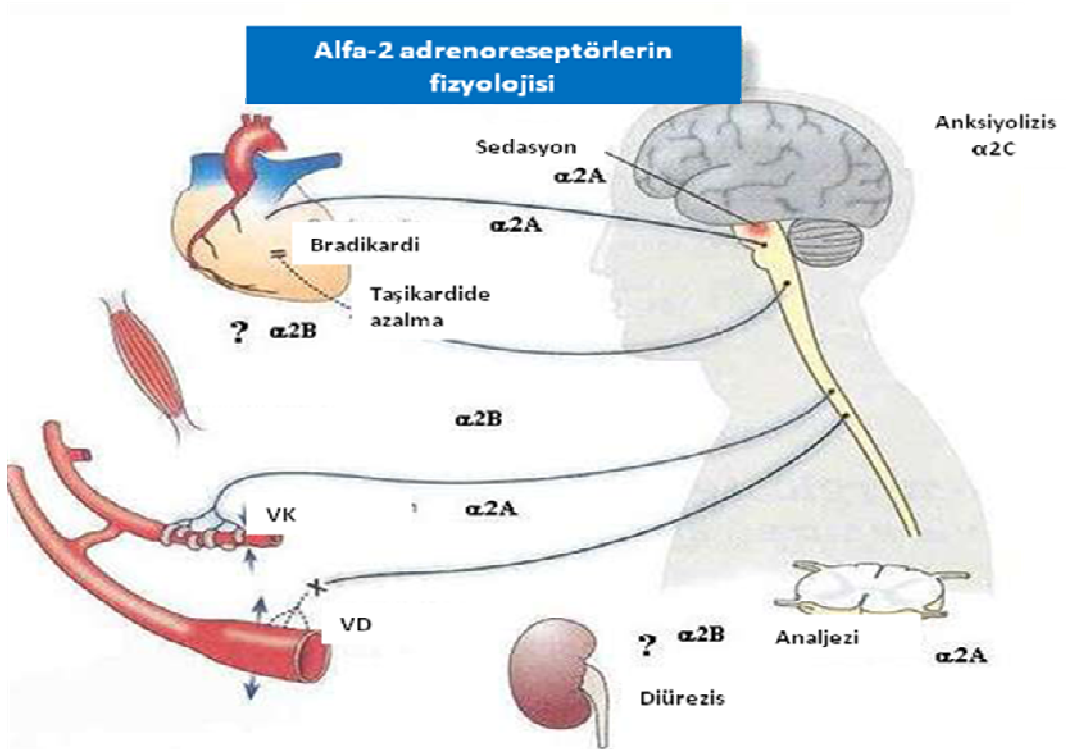
Adrenalin veya noradrenalin her ikisi de α_1 , α_2 veya β reseptörlere bağlanarak etki gösterebilirler. α_1 reseptör Gq proteini ile eşleşerek hücre içi Ca^{+2} artışına ve örneğin düz kaslarda kontraksiyona neden olur. α_2 reseptör Gi proteini ile eşleşir cAMP aktivitesinde azalmaya ve örneğin düz kas kontraksiyonuna neden olur. β reseptörler Gs proteini ile eşleşir, hücredeki cAMP düzeyi artışına ve kalp kası kontraksiyonu, düz kas gevşemesine ve glikojenolizise neden olur⁵⁴.



Şekil 3: Adrenalin ve noradrenalinin kimyasal yapısı

II.5.1. α_2 -Adrenerjik Reseptörler (α_2 -AR)

α_2 -AR'ler santral sinir sistemi, periferik sinirler (somatik ve otonomik) ve otonom ganglionlarda bulunurlar. α_2 -AR'ler katekolaminlerin periferik ve santral sinir sisteminde pre- ve postsinaptik baskılayıcı aktivitelerine aracılık ederler. Özellikle sempatik afferentlerle innerve olan dokular olmak üzere tüm vücutta dağılmışlardır. Postsinaptik α_2 -AR'ler, ayrıca vasküler düz kas gibi efektör organlarda da bulunurlar⁵⁵.



Resim1. α_2 - adrenerjik reseptörlerin aracılık yaptığı cevaplar. Sedatif etki beyindeki lokus seruleusta oluşmaktadır, analjezik etki ise muhtemelen spinal kordaki reseptörlere bağlı gelişmektedir. Periferik ve supraspinal etki bölgeleri ise kesindir. α_2 agonistlerin kalpteki belirgin etkileri taşikardiye azaltmaları ve bradikardiye yol açmalarıdır. Periferik vaskülatürde sempatolizis aracılığıyla vazodilatasyon ve düz kas hücrelerindeki reseptörler aracılığıyla vazokonstriksiyonun her ikisi birden gözlenir. Diüretik ve titremeyi engelleyici etkideki mekanizma henüz tanımlanmıştır.⁵⁵ (VK: vazokonstriksiyon, VD: vazodilatasyon)

α_2 -AR alttipleri ile ilgili bilgiler 1982 yılında, radyoligand bağlama çalışmaları sonucu verilmiştir. Moleküler klonlama yöntemiyle

tespit edilen üç α_2 -(AR) alttipinin farmakolojik olarak yapılan bağlanma ve fonksiyon çalışmalarıyla da uyduğu gösterilmiştir ^{56,57}. 1987 yılında Lefkowitz Laboratuvarında insan trombosit α_2 -AR' lerini kodlayan genlerin klonlama, sekanslama ve ekspresyon çalışmaları yapılmıştır ⁵³. Bu 3 alt grup reseptör, proteinlerinde 7 kat membran segmentli, G protein bağlantılı reseptörlerdir ^{56,57}. Hücresel düzeyde her 3 alt grup G_i/G_o sinyal sistemi ile bağlantılıdır. α_2 -AR' lerin aktivasyonu hücresel düzeyde; adenilat siklaz aktivitesini ve siklik AMP sentezini, voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarını inhibe eder. Bunun yanı sıra K^+ kanallarını hiperpolarize ederler, fosfolipaz C'yi aktive ederler ⁵⁸⁻⁶¹. Reseptör alt grupları arasındaki en önemli fonksiyonel farklılık çeşitli dokulardaki spesifik dağılım paterni ile ilişkili gözükmemektedir.

α_2 -(AR)'in fizyolojik fonksiyonlarına bakıldığında nörotransmitter salınımının azaltılması, kan basıncı regülasyonu (santral ve damarlar üzerinden), sedasyon, analjezi, anestezi etki, insülin salınımı regülasyonu, lipoliz, böbrek fonksiyonları ve multipl davranışsal ve kognitif fonksiyonlar gibi geniş bir spektrumunda rol aldıkları tespit edilmiştir ^{57,62,63}. Sempatik aktivitedeki azalmadan α_{2A} ve α_{2C} 'nin sorumlu olduğu gösterilmiştir ^{64, 65}. α_{2B} -AR alttipinin ise agonistik maddelerin vazokonstriktör etkisinde aracılık ettiği gösterilmiştir ⁶⁶.

Üç α_2 -(AR) alttipi (A, B, C) insanda sırasıyla 10, 2, 4. kromozomda yer alan gen bölgeleri tarafından kodlanırlar ^{53,67,68}.

II.5.1.1. α_{2A} - Adrenerjik Reseptörler (ADRA2A)

ADRA2A ilk olarak insanda trombositlerde tespit edilmiştir ve trombositlerdeki tek alttiptir. Alttipilerin spesifik fonksiyonlarını ortaya koymak için hedef alttipi iptal edilmiş farelerle çalışmalar yapılmıştır. Sempatik tonus ve noradrenalin düzeyindeki azalma, kan basıncı ve kalp

atım hızındaki azalmadan, sedasyon ve analjeziden ADRA2A subtipinin sorumlu olduğu kesinleşmiştir ^{69,70,71}.

ADRA2A'sı iptal edilmiş farelerin plazma noradrenalin düzeyi, kalp atım hızları ve kan basınçları WT (gen bölgesi sağlam) farelere göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu grup farelerde α_2 -agonist uygulanmasının ardından oluşan klasik kan basıncı ve kalp atım hızındaki azalma gözlenmemiştir ^{65,72}. Plazma katekolamin düzeyleri ve sempatik sistemin düzenlediği kalp atım hızı ve kan basıncı gibi fizyolojik parametrelerde genetik komponentin büyük payı vardır. ADRA2A sempatik aktivite ve bu fizyolojik parametreler için önemli hedef gen durumundadır ^{61,73,74}.

ADRA2A aktivasyonu lipid ve glukoz metabolizmasını ^{75,76}, vücut ısını ⁷⁷, trombosit agregasyonunu ⁷⁸ ve kognitif fonksiyonları ⁷⁹ etkilemektedir.

Santral sinir sisteminde en yaygın bulunan α_2 -AR subtipi α_{2A} ve α_{2C} -AR'lerdir ^{13,80,81}. Lakhani ve arkadaşları ADRA2A fonksiyonları bozulmuş fareler üzerinde yaptıkları çalışmada adrenoseptör agonistlerinin antinoseptif ve sedatif etkilerinin bu alttip üzerinden gerçekleştiğini göstermişlerdir ^{82,83,84}.

ADRA2A geni insanda 10. Kromozom q23-25'da yer almaktadır ve intron içermemektedir. Bu genin tüm sekansı (HUMADRA2AR) 1989 yılında Fraser ¹² tarafından yayınlanmıştır.

```
1AGCACCTGCGGACCGCGTCTGGCTCTGGCCCGGAGCTGGGCTGCTCCAGACGTAACCTACA 60
61 CCGGAGGTTACTTCCTCGATTGGGCGGGGATTCCCTTCCATTTTTTCTTCCCTTTTC 120
121 TCCCAAGATCCAGCTTCTTGGGGGCACTCACGGGTGCCGTTGCGTTCTGCTCCGTCGGC 180
181 CCGGAGCTGCATGGCCAACCTCCAGCAGGGGCCGCTCCTCCCTACCCCCACCCCCGGG 240 {183.baz: G/C}
241 CTCCTCTTTAAGTCTCTAGCTCAAGGTACCGCCTCTCAAAGGGCTCGTCCCGCCTGA 300 {252.baz: A/G}
301 GGGCAACGCTCCCCGAGGTCCAGCGCTAGGCGCGGGCGCTAGACTGGCGGAGGGGTGGTG 360
361 CGAGGGGCGGGGAGGGTCTGGCTTCCACGTGGGGGCTGACGCCGGCTGCTCAGCAACGC 420
```

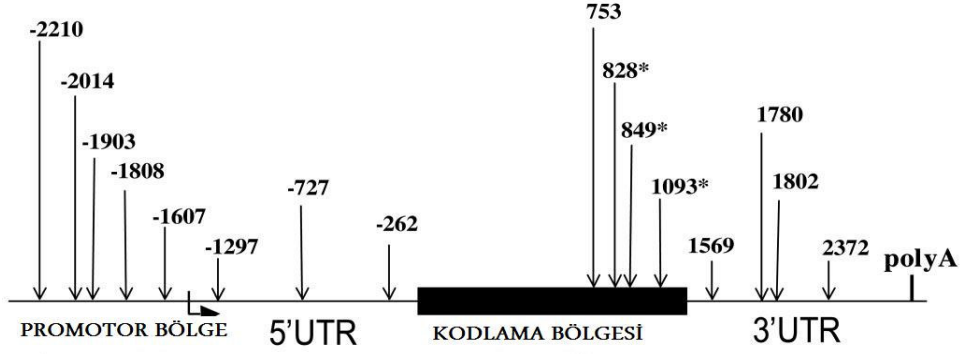
421 TTGCTTGATCCTGGGGCTATAAAACGAGTCCACCGTGAGCGCAGCGGAGCAGCAGCAGCT 480
 481 CCAGCTCGGTGCAGAAGCCCAGCAGCCGGCGTGCCGCCGCCGCCACTCCAGCGCCTTC 540
 541 TTCCCCGCTTGCGCTCTGCCCAACTCGCGCTGTCGTGGACCCCGGCCATCCAGCA 600
 601 **GCGCTCGGCGCCACCAGGCGGACGCCCAGGAGAACCCCTGCCTCCGTCGCGGCTCCTGG** 660
 661 **AGAGCTGATCGTTACCTGCCCCGGCCCGCTGAGGACGGGGGTGCCTTCATGCGGCCCC** 720
 721 **CACACTCCTCACCCCGCCGCCGCCGCTCCC****G****GAGTCCGCACAGT****G****T****CCCCAGCCCC** 780 {753.baz: G/C}
 [{769.baz:T/C}]
 781 **AGCAGGGCGCACAACTTTGGAAGTCTCGCGGCGCTCCGAGAGGCGGCAGAGTCCGCGCCC** 840
 841 **CAGCCCCGGGCCGGGCCGGCCAGAACCAGCAGCGTCTGGGGGAAGCCAGAGAGTCCGTAA** 900
 901 **TCGCTTCGGGGATGTAAGGCGACAGACATAGGACCCCGAGCTCGCATCAGCACCCCTTCG** 960
 961 **GCTGCCTCCCGGGTGGGGGCGGGCCCCGCACACGGTAAGACCTCTTGCTTTGCTCAGG** 1020
 1021 **CTCAAGATTCAAGATACAGATATTGATATGTATATATATATTTAATTTCTGTCTCCTT** 1080
 1081 **CCAAGTTATCAGGCCACCGATGATTTTTGTTCTCCCTTCTTGAAGAATAAATCTCTCTT** 1140
 1141 **ACCCATCGGCTCTCCCTACTCTCTCCCGCCGCTTAGAAATAAACTTGGCTGTATTAGGA** 1200
 1201 **GCTCGGAGCAAGAAGGC****G****CCCACCGAGAGCGTCTGAAGCGCAGCCAGGCGCAGTTCCGG** 1260 {1218.baz :G/A}
 1261 **GGACCCGGGCCATGGGCCGCTAGCGGTCT****C****AGTTCGGGCCCGGCCTCCCTGCGGCCCC** 1320 {1291.baz C/G}
 1321 **CTCCTATGTGAGCCGAGCCAGGCGAGCGGGGCGCCGAGGAAGAGGAGGACCCACGGG** 1380
 1381 **CGCCGGGCCGGAAGGCAGCTGGCAGCAGGCCAGGCCAGCGGGCGCCCGCTTCATGTTT** 1440
 1441 **CGCCAGGAGCAGCGTTGGCCGAGGGCAGCTTTGCGCCATGGGCTCCCTGCAGCCGGAC** 1500
 1501 **GCGGGCAACGCGAGCTGGAACGGGACCGAGGCGCCGGGGGGC****G****GC****CCCCGGG****C****CACCCCT** 1560 {1543.baz:G/A}
 {1553.baz: C/G}
 1561 **TACTCCCTGCAGGTGACGCTGACGCTGGTGTGCCTGGCCGGCCTGCTCATGCTGCTCACC** 1620
 1621 **GTGTTCCGGCAACGTGCTCGTCATCATCGCCGTGTTAC****G****AGCCGCGCGCTCAAGGCGCCC** 1680 {1659.baz: G/C}
 1681 **CAAAA****C****CTCTTCCTGGTGTCTCTGGCCTCGGCCGACATCCTGGTGGCCACGCTCGTCATC** 1740 {1686.baz: C/T}
 1741 **CCTTTCTCGCTGGCCAACGAGGTGATGGGCTACTGGTACTTCGGCAAGGCTTGGTGCGAG** 1800
 1801 **ATCTACCTGGCGCTCGACGTGCTCTTCTGCACGTGTCATCGTGCACCTGTGCGCCATC** 1860
 1861 **AGCCTGGACCGCTACTGGTCCATCACACAGGCCATCGAGTACAACCTGAAGCGCACGCCG** 1920
 1921 **CGCCGCATCAAGGCCATCATCATCACCGTGTGGGTATCTCGGCCGTCTCTCCTTCCCG** 1980
 1981 **CCGCTCATCTCCATCGAGAAGAAGGGCGGCGGCGGCGGCCCGCAGCCGGCCGAGCCGCGC** 2040
 2041 **TGCGAGATCAACGACCAGAAGTGGTACGTATCTCGTGTGTCATCGGCTCCTTCTTCGCT** 2100
 2101 **CCCTGCCTCATCATGATCCTGGTCTACGTGCGCATCTACCAGATCGCCAAGCGTCGCACC** 2160
 2161 **CGCGTGCCACCCAGCCGCCGGGTCCGGACGCCGTGCGCGCGCCGCCGGGGGGCACCGAG** 2220
 2221 **CGCAGGCCCAA****C****GGTCTGGGCCC****CGAGCGCAGCGCGGGCC****CGGGGGGCGCAGAGGCCAA**
 2280 {2232.baz:C/G} [{2243.baz: CGAGCGCAGCGCGGGCCC/-}]
 2281 **CCGCTGCCACCCAGCTCAACGGCGCCCTGGCGAGCCCGCGCCGGCCGGCCGCGCGAC** 2340
 2341 **ACCGACGCGCTGGACCTGGAGGAGAGCTCGTCTTCCGACCACGCCGAGCGGCCTCCAGGG** 2400
 2401 **CCCCGCAGACCCGAGCGCGGTCCCGGGGGCAAAGGCAAGGCCCGAGCGAGCCAGGTGAAG** 2460
 2461 **CCGGGCGACAGCCTGCCGCGGCGGGGCCGGGGCGACGGGGATCGGGACGCCGGCTGCA** 2520
 2521 **GGGCCGGGGGAGGAGCGCGTGGGGCTGCCAAGGCGTCGCGCTGGCGCGGG****G****GGCAGAAC** 2580 {2572.baz:C/A}
 2581 **CGC****G****AGAAGCGCTTCACGTTCTGCTGGCCGTGGTCATCGGAGTGTTCGTGGTGTGCTGG** 2640 {2584.baz: G/T}
 2641 **TTCCCTTCTTCTTACCTACACGCTACGGCCGTGCGG****T****GCTCCGTGCCACGCACGCTC** 2700 {2680.baz: T/A}
 2701 **TTCAAATCTTCTTCTGTTTCGGCTACTGCAACAGCTCGTTGAACCCGGTCATCTACACC** 2760
 2761 **ATCTTCAACCACGATTTCCGCCGCGCCTTCAAGAAGATCTCTGTGCGGGGGACAGGAAG** 2820
 2821 **CGGATCGTGTGAGGTTTCCGCTGGCGCCCG****G****GTAGACTCACGCTGACTGCAGGCAGCGGG** 2880 {2851.baz: C/G}
 2881 **GGGCATCGAGGGGTGCTTAGCCCCAGGGCACTCAGAAACCCGGGCGCTGCCTGCTCTGCG** 2940
 2941 **TTTCTCGTCTGGGGTGGCT****T****GCAGCCTCCTGCGGGCGGGCGTCTGCTGCTCTACAAG** 3000 {2962.baz: T/A}
 3001 **GGAAGCTTCTTGTGCCAGGCCACACATCCCCAGTTGTTGGTTTGG****C****CACTCTTGACCT** 3060 {3048.baz: C/A}
 3061 **GGAGCCATCTTCTAGTGGGCCACCCCTAATCACTATTGCTTCTTAAAGGTATTTTACC** 3120
 3121 **CTCTTCGCTGGTACAGCCCTCACAGCTTTCAGAGCAAGCACTGGACTACAAGGGCATG** 3180
 3181 **GCTCACAAAAGGTTAATGGATGGGGTTACCTAGCCCTGGCTAATTCCTTCCATTCCC** 3240
 3241 **A****A****ACTCTCTCTCTTTTT****A****AAGAAAAATGCTAAGGGCAGC****C****CTGCCTGCCCTCCCCATCC** 3300 {3259.baz: A/G}
 [{3281.baz: C/A}]
 3301 **CCCGCTGTAAATATACACTATTTTTGATAGCACACATGGGGCCCCCATATCTTGGCCT** 3360

3361 TGGTTTTGATGTTGAAATCCTGGCCTTGGGAGAGATGCCTTCCAGGCAGACACAGCTGTC 3420
 3421 TGGTTCAGGCCAAGCCCTTTGCAATGCAAGCCCTTTCTGGTGTTATGAAGTCCCTCTAT 3480 {3436. baz: C/G}
 3481 GTCGTCGTTTTACCAGCAACTGGTGAAGTGTCCCTTCGACACGGACCTGCTTTGAGATTT 3540
 3541 CCTGACAGGGAAAAGATTTCTGTCCATTTTTTCTGTGCCTACAGCATAAATTGCCTTT 3600 {3583. baz: A/G}
 3601 TCCTATGTAATATTATGATGGTGGATCAAGACATAAGTAAATGAGCCTTTCTGCCTCAC 3660
 3661 ATCAGCCCTGTGTATAAAGCCATTATTCTCTGATGCACTGTTTGCCCCAGTAACTCACTT 3720 {3679. baz: G/A}
 3721 TAAAACCTCTCTTCCAGTGTTCCCTCTCTCCCTCCAGGGCCACTGCTTGAAGAAGAATA 3780
 3781 TGTATGTTTCTATCTTGTATGTCTGTGTGCCCCCTCCTGCCCGAAAGTGCTGACTATGGG 3840
 3841 GAAATCTTTTAGCTGCTGTTTTAGACTCCAAGGAGTGGAATTATGTGAAGAAGCAAA 3900 {3851. baz: A/G}
 3901 CCTGATACAATTTGCCAAGGTAAACAGTTTAAAAGACAAATGGGCCTGCCAACTGTA 3960
 3961 CAGTTTCTCCCCAAGAGCTGTTAGGTATCAAAATGTTGCTTTCCCCCTCCGTGCTT 4020
 4021 TTCTGGTTGAGATCATGTGATGTAAGTCCAAAGTCAGGGGAGGAGGGCAGAGACTT 4080
 4081 TGTGTTTACATCTGCATTTCTACATGTTTATAGACAGAGACAATTTAAGGCCTGCACTCTT 4140
 4141 ATTTCACTAAAGAAAACTAATGTCAGCATGTTGCTAATGACAGTGGATTTTTTTTA 4200 {4169. baz: A/T}
 4201 AATAAAAAAGTTACAGATCAAATGTGAAATAAATATGAATGGAGTGGTCTCTTGTCTG 4260 {4260. baz: G/T}
 4261 TTACTGAGTTTTCAAAGCTTTAAGACTCTGGGAACATCTGATTTATGGATTTTTTAA 4320 {4264. baz: T/A}
 4321 AAATAAAAAATGTACATTATAAAAAATTTTTAAACGTTCCATCAGTAACAAAGCTACCAT 4380
 4381 TTAATAAGTGTCTGACATGCTAGACACTGTGGTGAAGTGGTGTAGGCATTGCCTCGT 4440
 4441 TTAATTTCTCAAGAACGCTATGAGGTAAGTTTATTACTATCCCCATTTACAGGTGAA 4500
 4501 GAAACTGAGTCTCAGAGCAAGTTTGTAACTTGTCAAGGTTAACAAGTGGTGGAATG 4560
 4561 CATCGTACCCAGCTTTATCTGGTTCTAGGGCCTGCACTCTTAACCCAGAACCTTTCCAG 4620
 4621 AGTTTTGGCATTAGCCCTTCTCAGAACACTCCAGTGGAGAGGTGTCTATGCAGTGTGCT 4680 {4664. baz: T/G}
 4681 ATCTATACCAGGTGTGAGATATATCCAGTATTTAATATACACAAGGTGTATACATACCC 4740
 4741 CAGTGTCTACATGACCTAATGTGTCTATATACCTCAAAGTGTGTATCTACTCCAAAGTGT 4800
 4801 GGTATATGCACCAAGTGTGGAATATACTCCAAATGTATATCACACCTTAAAGCATGATA 4860
 4861 ATATATGACATGTAGCATATACTCCATAGTGTGTTATGCACTAAGTATGGTCTAAAACC 4920
 4921 TGAATAGAACCATGTATTAGTTGGT 4945

Şekil 4. İnsan ADRA2A geninin tüm dizgisi

II. 5.1.2. α_{2A} - Adrenoreseptör Gen (HUMADRA2AR) Polimorfizmi

ADRA2A genomik boyutu 4000 bp'den az olan küçük bir gendir. Promoter, 5' UTR, kodlama, 3'UTR bölgesi ve nükleotid pozisyonunda polimorfizmler mevcuttur^{71,85,86}. Tek nükleotid polimorfizminin (SNP) 12 varyantı tanımlanmıştır, bunlardan 8 tanesi mRNA bölgesinde veya çok yakınındadır. Literatürde ADRA2A ile ilgili bildirilen SNP'ler ve allel frekansları tablo1'de özetlenmiştir⁶¹.



Şekil 5 : İntronsuz insan α_{2A} - adrenoseptör gen polimorfizmlerinin organizasyonu ve lokalizasyonları.

α_{2A} -AR Asn251Lys polimorfizmi reseptörün 3. stoplazmik loopunda yer alır ve agonistin başlattığı Gi çiftleşmesini etkiler. İlgili genin günümüze kadar tespit edilmiş kodlamada değişikliğe neden olan tek polimorfizmdir. Ancak 251Lys allel frekansı diğer polimorfizmlere kıyasla daha nadir gözlenmektedir (Beyaz Avrupa Irkında %0,4 ve Afrika kökenli Amerikalılarda %5)⁶¹.

ADRA2A SNP'lerinin en sık çalışılanlarından birisi de DraI RFLP'dir. HUMADRA2A 3'UTR bölgesinde yer alır ve esansiyel hipertansiyon⁸⁷, artmış kardiovasküler reaktivite, vücut yağ dağılımı⁸⁸, trombosit agregasyonu⁷⁸ ve glukoz metabolizması⁸⁹ ile bağlantıları gösterilmiştir.

ADRA2A geninde yer alan diğer bir polimorfizm de C-1291G (rs 1800544) (MspI, HpaII) polimorfizmidir.

Tablo 1: İnsan α_{2A} AR genindeki polimorfizmler⁸⁶.

Pozisyon	Baz*	Allel frekansları (%)		
		BAI (n = 80)	AA (n = 80)	AS (n = 40)
-2210	T/A	71	18	20
-2014	C/T	0	3	0
-1903	G/C	0	5	0
-1808	G/T	3	14	13
-1607	C/G	0	5	0
-1297	C/G	71	29	20
-727	C/G	11	5	23
-262	G/A	6.3	29	13
753	C/G	0	5	0
828	C/T	0	0	2.5
849	C/G	0	1	0
1093	C/A	1.3	8.8	38
1569	C/A	6.3	29	13
1780	G/A	23	28	68
1802	C/A	3	14	13
2372	A/G	3	10	38

BAI, Beyaz Avrupa Irkı ; AA, Afriko Amerikan ; AS, Asyalı

II.5.1.3. ADRA2A C-1291G Polimorfizmi

ADRA2A'nın promotor bölgesi 1291. nükleotid sırasında sitozin (C)'in, guanin (G)'e substitüsyonu ilk olarak 1997 yılında Lario ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir. Nükleotiddeki bu substitüsyon amino asit substitüsyonunda bir değişikliğe neden olmamaktadır ve hücresele düzeydeki etkisi de henüz bilinmemektedir¹⁵.

Bu polimorfizm ile kişilik yapısı, alkol ve sigara gibi bağımlılıklar, hastalıklar ve ilaçlara yanıt arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma mevcuttur. Sigara ve alkol bağımlılığı ile C-1291G polimorfizminin arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmada G alleli ve her iki bağımlılıkla ilişki tespit edilmiştir⁹⁰. Literatürde hipertansiyon¹⁵, obezite⁹, dikkat

eksikliği/hiperaktivite bozukluğu⁹¹, Alzheimer⁹² gibi birçok patolojik durumla bağlantısı araştırılmıştır.

C-1291G polimorfizmi ve ilaçların etkisini araştıran çalışmalar da mevcuttur. Klozapinin⁹³ ve olanzapinin⁹⁴ neden olduğu kilo artışı, dikkat eksikliği/hiperaktivite tedavisinde kullanılan metilfenidatın etkinliği¹¹ ile söz konusu polimorfik bölgenin ilişkisi araştırılmıştır.

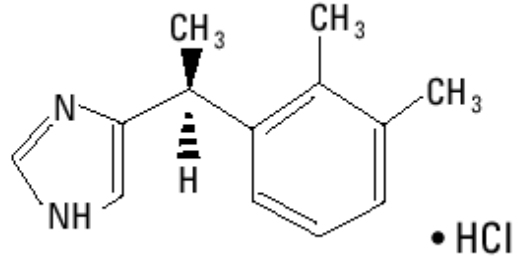
Bir çalışmada C-1291G heterozigot bireylerde deksametazona artmış kortizol cevabı, açlık kan şekerinde ve diastolik kan basıncında artışa meyil tespit edilmiştir⁹⁵.

Çeşitli toplumlarda sağlıklı bireylerde C1291G polimorfizmini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Tablo 2’de çeşitli toplumlardaki C1291G polimorfizmi genotip yüzdeleri ve allel frekansları verilmiştir. Bu polimorfizm ile ilgili çalışmalar halen geliştirilme aşamasındadır.

Tablo 2 :Farklı toplumlardaki C-1291G polimorfizmi genotip yüzdeleri ve allel frekansları.

Populasyon	Kaynaklar	Sayı	Genotip Frekansı (%)			Allel Frekansı (%)	
			CC	CG	GG	C	G
Türk	Karahalil ve arkadaşları	203	31.6	57.6	11.3	60	40
İspanyol (Caucasian)	Clark et al.2007	158	51	41	8	72	28
Brezilya (Caucasian)	Roman et al.2003	100	56	35	9	74	26
Brezilya (Caucasian)	Schmitz et al.2006	100	47	45	8	69	31
Amerika Beyaz İrk Siyah İrk	Garenc et al.2002	494 274	53 9	40 50	7 41	73 34	27 66
Amerika Beyaz İrk Siyah İrk	Lima et al. 2007	232 73	53.5 13.7	36.5 50.7	10.1 35.6	72 39	28 61
İsveç	Rosmond et al. 2002	264	0	45.8	54.2	23	77
Japon	Rosmond et al. 2002	100	44	40	16	36	64
Japon	Ohara et al. 2000	90	15.8	40.4	22.8	36	64
Japon	Matsunaga et al. 2007	149	8.7	38.9	52.4	28	72
Kore	Park et al. 2006	62	12.9	51.6	35.5	61	39
Çin	Wang et al. 2005	93	18.3	47.3	34.4	42	58
Çin	Tsai et al. 2001	198	9.6	40.4	50	30	70
Çin	Wang et al. 2006	559	12.7	41.9	45.4	34	66

II.6. Deksmedetomidin



Şekil 6. Deksmedetomidin'in kimyasal yapısı

*(+)-4-(S)-[1-(2,3-dimethylphenyl)ethyl]-1H-imidazole monohydrochloride*¹⁰⁰

Deksmedetomidin; (Precedex; Abbott Labs, Abbott Park, IL), 1999 yılının sonlarında Amerika Gıda ve İlaç Teşkilatı (FDA) tarafından erişkin yoğun bakım hastalarında kısa süreli (<24 saat) infüzyon ile sedasyon amaçlı kullanımı onaylanmış bir sedatif ilaçtır^{96,97}. Deksmedetomidin medetomidinin dekstro-izomeri ve aktif formudur. Bir α_2 -AR agonisti olan deksmedetomidin imidazol reseptörlerini de etkilemektedir. Deksmedetomidin α_2 -AR lere klonidine göre sekiz kat fazla afinite gösterir. α_2 agonistik etkisi α_1 agonistik etkiye göre 1620 kat potentir^{55,98,99}.

Deksmedetomidin-HCl kimyasal olarak, (+)-4-(S)- [1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol monohidroklorid şeklinde düzenlenmiştir.

- **İlacın kimyasal ve moleküler yapısı:** İmidazol türevi, medetomidin'in d-izomeri.
- **İlacın kimyasal ve fiziksel özellikleri:**
Beyaz veya beyazımsı bir tozdur
Moleküler ağırlığı: 236,7

Partisyon katsayısı: 2.89 (pH 7.4'de)

pH: sistemik 4.5-7.0

pKa: 7.1

Çözünürlük: suda çözünebilir.

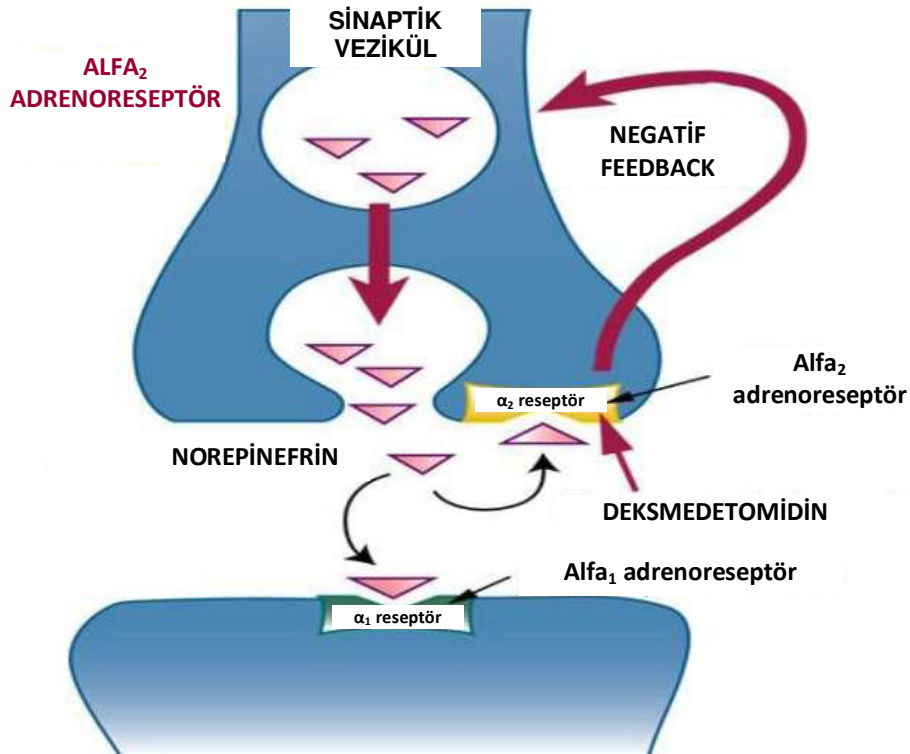
Precedex'in her 1 mL'si, 118 mcg'lık deksmedetomidin-HCL ve 9 mg sodyum klorür içermektedir. Bu solusyonda koruyucu bulunmaz ve solusyon aditif veya kimyasal stabilizatörler içermez ¹⁰⁰.

II.6.1. Farmakokinetik özellikleri

Deksmedetomidin, infüzyonu takiben hızlı bir dağılım fazı gösterir; dağılım yarı ömrü 6 dakika kadardır. Sabit durum dağılım hacmi 102.1-118 L'dir. Deksmedetomidinin ortalama proteine bağlanma oranı %93.7'dir. Cinsiyet ve renal bozukluğun proteine bağlanmada etkisi yoktur. Yoğun bakımda sık kullanılan birtakım ajanların (ör: fentanil, ketorolak, teofilin, digoksin ve lidokain) varlığında proteine bağlanmasında ihmal edilebilir miktarda değişiklik olmaktadır ¹⁰¹.

Deksmedetomidin karaciğerde biyotransformasyona uğrar, % 95 idrar ve % 4 feçesle atılır. Atılan temel metabolitler N-glukuronitler (G-DEX-1 ve G-DEX2) ve N-metil-O-glukuronittir. Deksmedetomidinin eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık olarak 2 saattir ^{101,102}.

Teratojenik, karsinojenik, mutajenik ve reproduktif çalışmaları sonucu Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. FDA) gebelikte kullanım kategorisini C olarak belirlemiştir ¹⁰⁰.



Resim 2. Deksmedetomidinin alfa reseptörler üzerinden etki mekanizması.

II.6.2. Farmakodinamik Özellikleri

II.6.2.1. Anksiyolizis ve Sedasyon

Deksmedetomidin; anksiyolitik ve sedatif etkisini santral sinir sisteminde (SSS) ana adrenerjik innervasyon sahası olan lokus seruleusda α_2 -AR'lerin aktivasyonu ile gösterir. Lokus seruleus; uyanma, uyku, anksiyete gibi önemli beyin fonksiyonları ve opioidler gibi SSS depresanı ilaçlarla oluşan çekilme sendromları için anahtar ayarlayıcıdır^{103,104}. α_2 -AR agonistleri ile oluşan sedasyon, benzodiazepinler veya propofol gibi geleneksel sedatiflerle olandan farklı olarak γ -aminobütirik asit (GABA) sisteminin aktivasyonuna dayanmaz. α_2 -AR agonistler bu nedenle serebral kortekste etki göstermezler. Bundan dolayı da GABA-mimetik ilaçlardan farklı olarak kooperasyonlu bir sedasyon formu

oluşturur. Hastalar kolaylıkla uykudan uyanıklık haline geçebilir ve uyaran verilmezse tekrar uyku haline dönebilir ¹⁰⁵.

II.6.2.2. Analjezik Etkileri

α_2 -AR agonistiklerin belirgin analjezik etkileri olduğu bilinmektedir. α_2 -AR uyarılmasının spinal kord seviyesinde analjezi oluşturduğuna dair güçlü kanıtlar olmasına ^{106,107} rağmen deksmedetomidinin analjezik etkilerinin primer olarak opioid destekleyici etkiye bağlı olup olmadığı henüz araştırılmaktadır ¹⁰⁸.

Perioperatif uygulanan deksmedetomidinin operasyon sırasında ve sonrasında ihtiyaç duyulan opioid veya non-opioid dozunu azalttığı bilinmektedir. Çalışmalarda deksmedetomidinin opioid ihtiyacını % 30-50 azalttığı gösterilmiştir ^{105,109}.

II.6.2.3. Solunum Sistemi Üzerindeki Etkileri

Sağlıklı gönüllülerde yapılan araştırmalarda, deksmedetomidinin yüksek dozlar dahil solunumu minimal etkilediği gösterilmiştir ¹¹⁰. Solunum sayısı ilaç dozu terapötik plazma düzeyinin 14 katına çıktığında dahi etkilenmemiştir ¹¹¹. Yoğun bakım hastalarında plasebo ve deksmedetomidin alan hastalarda ekstübasyon sonrası solunum fonksiyonları arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir ¹¹².

Solunum sistemini minimal etkilemesi deksmedetomidini diğer sedatif ajanlara üstün kılan önemli bir özelliğidir.

II.6.2.4. Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

Deksmedetomidinin kardiyovasküler etkileri periferik ve santral yerleşimli reseptörler ve hedef organdaki postsinaptik reseptörlerdeki aktivasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Santral sinir sistemi (SSS) ve sempatik sinirlerdeki presinaptik α_2 -AR aktivasyonu sempatolizise neden olurken, vasküler postsinaptik reseptör aktivasyonu vasküler düz kasda yer alan α_2 -AR aracılığı ile vazokonstrüksiyona, endotelial α_2 -AR aktivasyonu aracılığı ile ise vazodilatasyona yol açar. Bu kompleks mekanizmalar nedeniyle de son etkisini hesaplamak güçtür ^{55,113}.

Deksmedetomidin, düşük konsantrasyonlarda neredeyse tam bir sempatolizise neden olurken, artan konsantrasyonlarda postsinaptik etkilerinde artış gözlenir. Yükleme dozu sırasında oluşan yüksek deksmedetomidin konsantrasyonları hipertansiyon ataklarının sebebi olarak düşünülmektedir. Deksmedetomidinin yükleme dozuna cevap bifaziktir. Kan damarlarındaki periferik α_2 -AR'lerin uyarılması sonucu geçici olarak vasküler dirençte artış olur. SSS'deki postsinaptik α_2 -AR'lerin aktivasyonu ise santral sempatolizise ve kan basıncında düşüşe neden olur ¹¹⁴.

Deksmedetomidinin sempatolitik etkisi serum katekolamin düzeyini, kalp atım hızını ve kontraktiliteyi azaltır. Koroner kan akımını diastolü uzatarak arttırır ve myokardın oksijen kullanımını azaltır ¹¹⁵.

Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada 1mcg.kg^{-1} hızındaki deksmedetomidin infüzyonu kalp atım hızında %17'lik ve kan basıncında %23'lük bir azalmaya neden olmuştur ¹¹⁶.

Koroner arter by-pass greft cerrahisi hastalarında postoperatif dönemde deksmedetomidin kullanımını araştıran çok merkezli bir çalışmada 1 mcg. kg⁻¹'lık yükleme dozunu takiben sistolik kan basıncında 6 mmHg'lık bir artış gözlenmiş ve bu artış 30 dakikada bazal değerlere düşmüştür¹¹⁴. Birçok çalışmacı yükleme dozunu düşürerek veya yükleme dozu uygulamayarak hipertansif ataklardan kaçınmışlardır^{112,117}. Geçici kan basıncı artışını takiben, lokus seruleusta bulunan α_2 -AR aktivasyonu sonucu sedasyon oluşur, beraberinde kalp atım hızı, kan basıncı, kardiyak output ve plazma katekolamin düzeyi düşer¹¹⁸. Bu çok merkezli çalışmada gelişen hipotansiyon atakları infüzyon dozu ayarlanarak, pozisyon değiştirilerek veya sıvı verilerek düzeltilmiştir.

Cerrahi öncesi hipotansiyon, hipertansiyon, bradikardi veya taşikardi öyküsü olan 401 hastada cerrahi sonrası yapılan bir çalışmada 10 dakika içinde 1 mcg. kg⁻¹ 'lık deksmedetomidin yükleme dozu uygulamanın hastalarda kardiovasküler komplikasyonları arttırmadığı tespit edilmiştir¹¹⁹.

II.7. Ramsay Sedasyon Skalası

Sedasyon değerlendirmesi için kullanılan sistemlerin doğru, hızlı ve kolay kullanılabilir, tekrarlanabilir, kolay kaydedilir ve hasta için rahatsızlık verici olmaması gereklidir. Ramsay skalası; sedasyon seviyesi, uyanıklık düzeyini ve uyku düzeyini tespit etmeye dayalı bir skorelama sistemidir. Bulgular puanlandırılarak bir skor bulunur. Bu skora göre hastanın sedasyon seviyesi tespit edilmiş olur¹²⁰.

Tablo 3 : Ramsay sedasyon skalası

Skor	Sedasyon Düzeyi
1	Huzursuz, ajite hasta
2	Koopere, oriente, sakin hasta
3	Sadece emirlere uyan hasta
4	Uyuyan, glabellaya vurma ve yüksek sese hemen yanıt veren hasta
5	Uyuyan, glabellaya vurma ve yüksek sese yavaş yanıt veren hasta
6	Bu, uyarılara yanıt alınamayan hasta

II.8. Bispektral İndeks (BİS)

Hastaların takibinde sedasyon derinliğini ölçmek için çeşitli skalalar kullanılmakla birlikte, bu skalalar ile hastaların sedasyon düzeyinin değerlendirilmesi sırasında sedasyon derinliğini anlayabilmek için hastanın sık sık uyarılması gerekmekte ve bu durum hastayı rahatsız etmektedir. Sedasyon seviyesini ölçmede cihaz bazlı ölçümler genel olarak en objektif ölçümler olarak kabul edilirler ¹²¹. Cihaz ile ölçümlerde üç metod vardır;

1. Bispektral indeks
2. Power spectral ölçüm
3. İşitsel uyarılabilir potansiyeller ¹²².

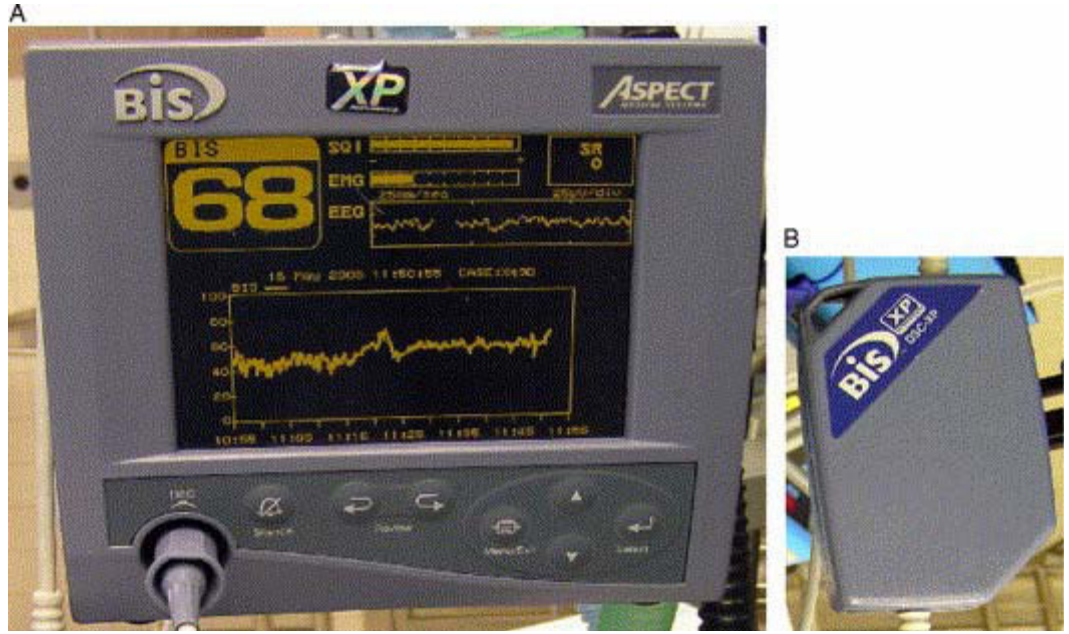
BİS, bir elektroensefalografi (EEG) parametresi olup anestezi ve sedatif madde uygulaması esnasında hasta yanıtını gösteren spesifik sayısal bir parametredir. Hipnotiklerin çoğu benzer EEG etkilerine sahiptir. Bispektral indeks anesteziğin ve sedatiflerin eklenmesiyle oluşan hipnotik etkiyi ölçmek için spesifik olarak geliştirilmiş bir EEG parametresidir. BİS daha sıklıkla genel anestezi sırasında kullanılmakla beraber sedasyon sırasında da hastanın takibinde kullanılabilmekte, hasta

ve cerrahı rahatsız etmeksizin sedasyon derinliği hakkında bilgi vermektedir ^{123,124}. BIS skoru 0 ila 100 arasında değişmektedir. 65-85 arasındaki değerler sedasyonu, 45-60 arasındaki değerler genel anesteziyi göstermekte, 40'ın altındaki değerler de kortikal baskılanma olarak değerlendirilmektedir ¹²⁵.

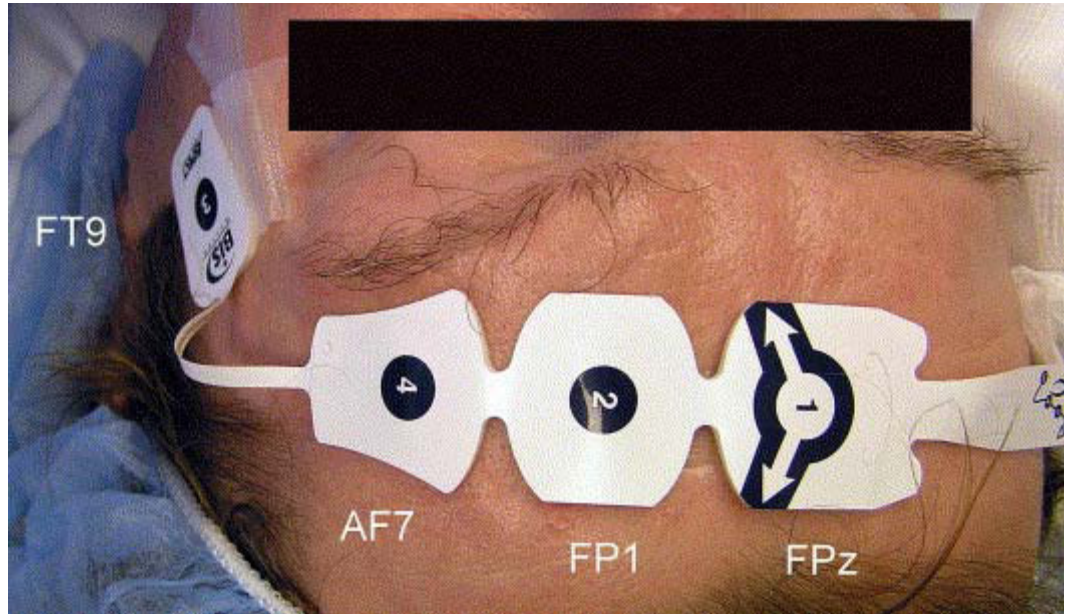
BİS; 1985'den bu yana Aspect Medikal Sistemleri tarafından geliştirilmektedir. Bu EEG parametresinin ticari olarak elde edilebilir versiyonu, beyinde anestezi etkinin bir göstergesi olarak 1996'da FDA tarafından onaylanmış ve bu endikasyon için FDA onayını almış olan tek cihazdır ¹²².

Tablo 4: BİS Düzeyi ve Klinik Durum , EEG'nin esas özelliği.

100	Uyanıklık, senkronize yüksek frekans aktivitesi
80	Uyanıklık alt sınırı, senkronize normal frekans aktivitesi
60	Hafif hipnotik düzey, normal düşük frekans aktivitesi
40	Derin hipnotik düzey, EEG'de bir miktar baskılanma
0	İzoelektrik EEG, total baskılanma



Resim 3. BIS monitörünün görünüşü ¹²⁶.



Resim 4. BIS monitörü ile monitörize edilmiş bir hasta ¹²⁶.

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi yerel Etik Komite ve Sağlık Bakanlığı Merkez Etik Komite izni (ektedir) ve yazılı hasta onayı alındıktan sonra koroner arter baypas greft cerrahisi uygulanacak olan 110 hasta ile gerçekleştirilmiştir. Hasta grubuyla uyumlu olacak şekilde α_{2A} – C1291G polimorfizmini araştırmak amacıyla 79 sağlıklı bireyden alınan kan örnekleri kontrol grubunu oluşturmuştur.

III. 1. Hasta Seçimi

Hastanemiz Kardiovasküler Cerrahi Kliniklerinde iskemik kalp hastalığı nedeniyle koroner arter baypas greft cerrahisi uygulanacak ASA (American Society of Anesthesiologist) fiziksel durumu II-III (ASA II-cerrahi olarak tedavi edilecek olan hastalığı dışında herhangi bir başka sistemik hastalık ve fonksiyonel kısıtlama olmayan hafif diyabet, kontrol altında hipertansiyon, sigara anamnezi vs. gibi ve ASA III- orta-ciddi sistemik hastalık, fonksiyonel kısıtlanması olan egzersiz toleransı kısıtlı iskemik kalp hastası, egzersiz dispnesi olan KOAH vs.) olan 110 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya alınmama kriterleri:

- son bir hafta içerisinde kahve tüketimi olan hastalar,
- deksmedetomidin alerjisi bulunanlar,
- operasyon sırasında 8 $\mu\text{g/kg}$ 'ın üzerinde dopamin, 8 $\mu\text{g/kg}$ 'ın üzerinde dobutamin, 4 $\mu\text{g/kg}$ 'ın üzerinde adrenalin infüzyonu ihtiyacı olan hastalar,
- ejeksiyon fraksiyonu (EF)<%40 olan hastalar,

- daha önceden bilinen veya operasyon sırasında oluşan kardiyak bloğu bulunanlar,
- α - AR'ler üzerinde agonistik veya antagonistik etkili ilaç tedavisinde olan hastalar,
- santral sinir sistemi üzerinde etkili ilaçlar kullananlar (antidepresan, anksiyolitik gibi)
- santral sinir sistemi bozukluğu olanlar.

III. 2 . Çalışma Protokolü

Hastalara operasyon odasına alınmadan yarım saat önce premedikasyon amaçlı 0,05 mg/kg (i.m.) midazolam uygulandı. Açık kalp cerrahisi için rutin olan EKG, invaziv arter basıncı, santral venöz basınç monitorizasyonlarının ardından, anestezi indüksiyonu; 0,1 mg/kg midazolam, 10 mcg/kg fentanil ve kas gevşemesi 0,6 mg/kg rokuronyum bromür ile sağlandı. Anestezi idamesi hasta ihtiyacına göre aralıklı olarak yapılan fentanil, midazolam ve rokuronyum puşeleriyle sağlandı.

Hastalar yoğun bakım ünitesine alındıklarında operasyondaki monitörizasyonlarına ek olarak BIS monitorizasyonu (A 2000 BIS Monitoring System, Aspect Medical System, The Netherlands) uygulandı ve Ramsay sedasyon skalası takip edildi. Ramsay sedasyon skalası 2 ve daha düşük olan hastalara deksmedetomidin infüzyonu başlandı. Çalışma ilacı başlanmadan önce tüm hastaların santral venöz basınçları 5-6 mm/Hg olacak şekilde mayi tedavisi uygulandı. Deksmetomidin (Precedex, Abbott Laboratoires) 1,4 µg/kg/saat infüzyon hızında başlandı. Kan basıncı 90/60 mmHg ve KAH 60 atım/dakikanın altına düştüğünde infüzyon dozu azaltıldı veya kesildi. İnfüzyon süresi bir saat olarak belirlendi. Bir saatlik süre içinde beş dakikalık aralıklarla sistolik arter basıncı (SAB), diastolik arter basıncı (DAB), kalp atım hızı (KAH), BIS puanı, Ramsay sedasyon skoru kaydedildi.

Ayrıca incelenen gen bölgesiyle ilişkisi olabileceğini düşündüğümüz ek hastalık durumu (hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı), sigara ve alkol alışkanlıkları, operasyon öncesi alınan rutin biyokimyasal ölçümlerinden glukoz (mg/dL), total kolesterol (mg/dL), HDL kolesterol (mg/dL), LDL kolesterol (mg/dL), trigliserid (mg/dL), düzeyleri de kaydedildi.

III. 3. Genetik Analiz

III. 3. 1. DNA İzolasyonu

Çalışmamızda deney grubu ve kontrol grubunu oluşturan hastaların periferik kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere alınarak sodyum perklorat / kloroform ekstraksiyon yöntemi ile DNA'ları izole edilmiştir (İngiltere - Scotlab protokolü). Genel olarak bir lizis işleminden sonra proteinlerin denatürasyonu ve nükleik asitlerin etanol ile çöktürülmesi esasına dayanır.

III. 3. 1. 1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Trizma Baz (Sigma Kat. No: T-1503)
- Sukroz (Sigma Kat. No: S-1513)
- Triton (Sigma Kat. No: X-100)
- Magnezyum Klorür (Sigma Kat. No: M-9272)
- Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma Kat. No:ED2SS)
- Sodyum Klorür (Merck)
- Sodyumperklorat (Sigma Kat. No: S-1513)
- Lauryl Sulfat (SDS) (Sigma Kat. No: L-4509)
- Kloroform (Merck)

- Hidroklorik asit (Merck)
- Mutlak Etanol (Kimetsan)
- Sodyum Hipoklorit (çamaşır suyu)

III. 3. 1. 2. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler

- **Lysis Tampon (Reaktif A):** (10 mM Tris HCl (pH=8), 320 mM Sukroz, 5 mM MgCl₂, %1 Triton); 12.1g Trizma Baz tartılarak 100ml distile suda çözüldü ve HCl ile pH'sı 8'e ayarlandı. 109.5 g Sukroz, 1.0g Magnezyum Klorür tartıldı, 1M Tris HCl (pH=8) çözeltisinden 10 ml ilave edilerek 1000 ml' ye distile su ile tamamlandı. Otoklav ile steril edildi. En son olarak sıcakken 10 ml Triton X-100 ilave edilerek, + 4 °C' de saklandı.

- **Reaktif B:** (400 mM Tris HCl (pH=8), 60 mM EDTA, 150 mM NaCl, %1 SDS, 1000 ml distile su); 48.5 g Trizma Baz, 22.3 g EDTA, 8.8 g NaCl tartılarak 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı. HCl ile pH'sı 8'e ayarlanarak otoklav ile steril edildi. En son olarak sıcakken 10 g SDS ilave edilerek, oda sıcaklığında saklandı.

- **5M Sodyumperklorat çözeltisi:** 70,2 g sodyumperklorat tartılarak 100 ml'ye distile su ile tamamlandı, otoklav ile sterile edildi. Oda sıcaklığında saklandı.

III. 3. 1. 3. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Aletler

- Terazî (Sartorius BA 610)
- Su banyosu (Nuve BM 102)
- EDTA'lı steril vakumlu kan tüpü (Greiner)
- Falkon tüpü (Greiner)
- Kromozom tüpü (Greiner)

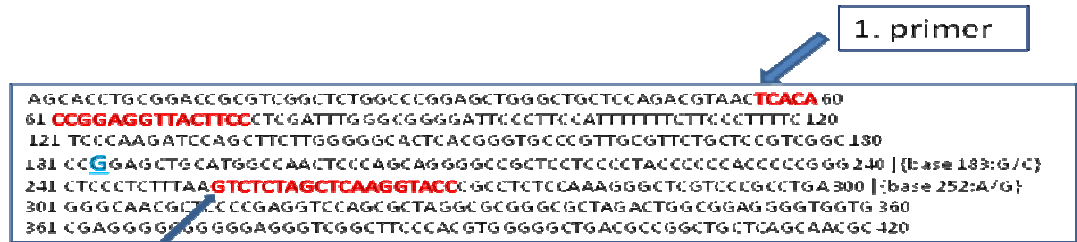
- Plastik Pastör pipeti (Greiner)
- Ağzı vidalı ependorf tüpü (Greiner)
- Steril Bioloop
- Mikropipetler
- Mavi ve sarı mikropipet uçları
- Otoklav bandı

III. 3. 1 . 4 . Deneyin Yapılışı

1. 5-10 ml kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Kan örnekleri izolasyon yapılınca kadar -20 °C' de saklandı. Kan örneklerinden **sodyumperklorat-kloroform yöntemiyle** DNA izolasyonu yapıldı.
2. Her birey için bir falkon tüpü kullanıldı. Her falkona soğuk Lysis tampondan (Reaktif A) 35ml ilave edildi.
3. Kan örnekleri falkonlara boşaltıldı. Tüpler alt üst edilerek karıştırıldı.
4. 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi.
5. Bu arada kromozom tüplerine 5M Sodyumperklorat çözeltisinden 0.5ml koyuldu.
6. Santrifüjden çıkartılan falkonların süpernatantları çamaşır suyu dolu behere boşaltıldı.
7. Pelletlerin üzerine Reaktif B'den pastör pipeti yardımıyla 2ml ilave edildi.
8. Falkondaki Reaktif B'li pellet sodyumperklorat içeren kromozom tüplerinin üzerine aktarıldı.
9. 15 dakika el ile alt üst edildi.
10. 65 °C'de 30 dakika etüvde inkübe edildi.
11. Etüvden alınan tüplere soğuk kloroformdan 2ml ilave edildi.
12. 10 dakika alt üst edildi.
13. 10 dakika 1400 rpm' de santrifüj edildi.
14. Üst fazın hepsi pastör pipeti ile yeni kromozom tüplerine aktarıldı.

15. Yeni tüpe aktarılan süpernatantların üzerine 5ml soğuk etanol ilave edildi.
16. Etanollü tüpler iyice alt üst edilerek, DNA sarmalının oluşumu gözlemlendi.
17. Bioloop ile oluşan DNA sarmalı alındı. Kuruması için ependorfa aktarılılarak 5-10 dk bekletildi.
18. Kuruyan DNA'lar ependorfların içine aktarıldı ve DNA'nın büyüklüğüne göre 200/300µL steril distile su ilave edildi.
19. 60 °C' de 1 gece su banyosunda inkübe edildi.
20. Çözünen DNA'lar +4 °C'de saklandı.

III. 3 . 2. DNA Örneklerinin PCR'a Uygulanması



2. primer

Şekil 7: Genin çalışılan dizgisi, primerler, polimorfik bölge.

III. 3. 2. 1. ADR2A C-1291G için PCR' da Kullanılan

Kimyasal Maddeler

- ADRA2A Primer R (5'-TCACACCGGAGGTTACTTCC-3')
- ADRA2A Primer F (5'-GTCTCTAGCTCAAGGTACC-3')
- dATP, 100mM (Fermentas)
- dCTP, 100mM (Fermentas)
- dGTP, 100mM (Fermentas)
- dTTP, 100mM (Fermentas)
- Taq DNA Polimeraz (Fermentas)
- 1x Termofilik Reaksiyon Tamponu (Fermentas)

- 25mM MgCl₂ (Fermentas)

III. 3. 2. 2. DNA Amplifikasyonu İçin Kullanılan Aletler

- PCR aleti (DNA Thermal Cycler) (Techne PHC-1)
- Mikrosantrifuj (MSE, Sanyo)
- 0.5 ml'lik ependorf tüpü (Greiner)
- Mikropipetler
- Mavi ve sarı mikropipet uçları

III. 3. 2. 3. DNA Amplifikasyonu için Kullanılan Çözeltiler

0.2 mM dNTP: 100 mM'lık dATP, dTTP, dCTP, dGTP nükleotid stok çözeltilerinden 10'ar µl alınarak, üzerlerine 60µl steril distile su ilave edildi. Santrifüj ile karıştırılıp –20 °C'de saklandı.

18 pmol reverse ve forward Primerler: Stok primer çözeltilerinin µM'lerine bağlı olarak, 18 pmol konsantrasyona steril distile su ile dilüe edildiler ve 20 °C'de saklandılar.

III. 3. 2 . 4 . Örneklerin ADRA2A Amplifikasyonu için PCR'a Uygulanması

DNA izolasyonu ile elde edilen genomik DNA'lar, promotor SNP, rs1800544 (*MspI* RFLP) bölgesi daha önceden tanımlanmış amplifikasyon yöntemiyle çoğaltıldı. PCR karışımı, 25 µl içerisinde 30 ng genomik DNA, her bir primerden 18 pmol, her birinden 0,2 mM olmak üzere dATP, dTTP, dCTP, dGTP, 25 mM MgCl₂, 1xTaq tamponu, 1,5 Ü Taq polimeraz enzimi olacak şekilde hazırlandı. Ependorf tüpleri PCR cihazına yerleştirildi ve belirlenen program uygulandı.

ADRA2A için PCR'ın şartları; ilk basamak denaturasyon için 94°C'de 3 dakika, 30 siklus olan denaturasyon (DNA'nın denatüre olması) için 94°C'de 30 saniye, annealing (primerlerin yapışması) için 56°C'de 45 saniye, ekstensiyon (primer ilavesinden sonra DNA'nın uzaması) için 72°C'de 60 saniyedir. 1 siklus olan son ekstensiyon ise 72°C'de 5 dakika olarak belirlendi.

PCR siklus programı:

94°C'de 3 dakika } 1. siklus

94°C'de 3 saniye.....denaturasyon }
56°C'de 45 saniye.....eşleşme } 35 siklus
72°C'de 60 saniye.....sentez }

72°C'de 5 dakika } 3. Siklus

III. 3. 3 . PCR Ürünlerinin Jele Uygulanması

III. 3. 3. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Rutin Elektroforez Grade Agaroz (Flowgen Kat. No: A3-0500)
- Etidium Bromür (Sigma)
- Trizma Baz (Sigma Kat. No: T-1503)
- Borik Asit (Sigma Kat. No: B-0252)

- Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma Kat. No: ED2SS)
- Bromofenol Blue (Sigma Kat. No:B-6896)
- Ksilen Siyanol FF(Sigma Kat. No:X-4126)
- Gliserol (Sigma)
- 100 bp'lık DNA markerı (Gibco BRL)
- Jel maskeleme bandı (Sigma Kat. No:T-6656)

III. 3. 3. 2. Kullanılan Aletler

- Elektroforez güç kaynağı (Consort E 425)
- Elektroforez tankı (Pharmacia GN 100)
- Elektroforez tepsisi (Pharmacia)
- Jel tarakları (Pharmacia)
- Mikrotiter kabı
- UV-transillüminatör (UVP)
- Elektrikli ısıtıcı
- Terazı (Sartorius BA 610)
- Mikropipetler (Gilson)
- Sarı ve mavi mikropipet uçları
- Otoklav bandı

III. 3. 3 . 3. Kullanılan Çözeltiler

TBE tampon (x10): Trisma bazdan 108 g, borik asitten 55 g, EDTA'dan 9.3 g tartıldı. 1L'ye steril distile su ile tamamlanarak otoklav ile sterilize edildi. Oda sıcaklığında saklandı.

TBE tampon (x1): 100 ml TBE tampon (x10) üzerine 900 ml steril distile su ilave edildi. Oda sıcaklığında saklandı.

%2'lik rutin agaroz çözeltisi: 2 g rutin agaroz tartıldı ve üzerine 100 ml TBE (x1) tamponundan ilave edildi. Elektrik ısıtıcısı üzerinde kaynatılarak çözünmesi sağlandı.

Jel yükleme tamponu: 0,25 g bromofenol blue, 0.25 g ksilen siyanol FF tartıldı ve 30 ml gliserol ve 70 ml distile su ilave edilerek karıştırıldı. Çözünmeleri için ısıtıldı. Oda sıcaklığında saklandı.

0.1µg/ml DNA marker'ı: 10µl 1µg/ml DNA marker, 90µl steril distile su ve 15µl yükleme tamponu ilave edilerek karıştırıldı. +4°C' de saklandı.

III. 3. 3. 4. Jelin Hazırlanması

Yukarıda açıklandığı gibi hazırlanan 100 ml %2 'lik agaroz çözeltisi soğumadan önce üzerine 10µl EtBr ilave edildi ve homojen dağılması için karıştırıldı. Bu sıcak karışım, daha önceden kenarları bant ile kapatılmış ve uygun taraklar yerleştirilmiş olan mika elektroforez tepsilerine hava kabarcığı kalmayacak şekilde döküldü. Jellerin donması için 15 dakika beklendi. Taraklar çıkartılarak jeller + 4 °C' de saklandı.

III. 3. 3. 5. PCR Örneklerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez

Enzim amplifikasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek amacı ile örnekler, PCR işlemi bitiminde %2'lik rutin agaroz jellere tatbik edildi. Bu amaçla önce mikrotiter kaplara her örnek için 2µl yükleme tamponu konuldu. Yükleme tamponu üzerine PCR ürününden 10µl ilave edilerek, pipetaj ile karıştırıldı. Bu arada jel TBE tamponu (x1) içeren elektroforez tankına alındı. Yükleme tamponlu PCR ürünleri, tarak dişleri sayesinde oluşan boşluklara teker teker uygulandı.

Bir jele 10 örnek ve oluşan ürünün büyüklüğünü ölçebilmek için gerekli olan bir DNA marker'ı uygulandı. Amplifikasyon ürünleri direkt olarak 120V akım varlığında 20 dakika jel elektroforezis'e tabi tutuldu. İşlem sonunda amplifiye edilen ADRA2A genine spesifik 216 bp'lik bant UV-transillüminator'de kontrol edildi.

III. 3. 4. ADRA2A C-1291G Genotipinin Belirlenmesi

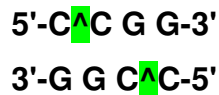
III. 3. 4. 1. ADRA2A Digest'inde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- MspI (Hpa II) restriksiyon enzimi (Fermentas)
- Tampon G (Tango Tampon) (x100) (Fermentas)

III. 3. 4. 2. ADRA2A Digest'inde Kullanılan Aletler

- Santrifüj (Mistral 1000)
- Etüv (Nüve EN 400)
- 0.5 ml'lik ependorf tüpü (Greiner)
- Mikropipetler
- Sarı ve mavi mikropipet uçları

III. 3. 4. 3. ADRA2A Reseptörünün MspI (Hpa II) ile Kesilmesi



ADRA2A PCR ürünleri, Msp I (Hpa II) restriksiyon endonükleaz enzimleri tarafından ADRA2A reseptörünün DNA diziliminde CCGG spesifik nükleotid dizisi tanınarak -1291 konumundaki sitozin (C)

bazından kesildi. Bu amaçla, ependorfa 10,2 µl PCR ürünü, 2,3 µl tampon G, 0,5 µl Hpa II konulup, santrifüj ile karıştırıldı. 37°C’ de etüvde 16 saat inkübasyona bırakıldı.

III. 3. 4. 4. ADRA2A Digest Ürünlerinin Jele Uygulanması

III. 3. 4. 4. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Nusieve 3:1 Agaroz (FMC)

ADRA2A PCR ürünlerinin jele uygulanmasında kullanılan kimyasal maddeler digest ürünleri için de kullanılmıştır.

III. 3. 4. 4. 2. Kullanılan Aletler

ADRA2A PCR ürünlerinin jele uygulanmasında kullanılan aletler digest ürünleri için de kullanılmıştır.

III. 3. 4. 4. 3. Kullanılan Çözeltiler

%3.5’luk Nusieve agaroz çözeltisi: 3.5 g Nusieve agaroz tartıldı ve üzerine 100 ml TBE (x1) tamponundan ilave edildi. Elektrik ısıtıcısı üzerinde kaynatılarak çözünmesi sağlandı.

ADRA2A PCR ürünlerinin jele uygulanmasında kullanılan çözeltiler digest ürünleri için de kullanılmıştır.

III. 3. 4. 4. 4. Jelin Hazırlanması

Jel, PCR ürünleri bölümünde açıklandığı şekilde hazırlandı.

III. 3. 4. 4. 5. Digest Ürünlerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez

III. 3. 4. 4. 6. ADRA2A Genotipinin Belirlenmesi

ADRA2A genotipinin belirlenmesi için, ADRA2A PCR ürünleri MspI (HpaII) restriksiyon enzimi tarafından kesildi. Kesilen örnekler jele uygulandı. Digest ürünleri, PCR ürünlerinin jele uygulanması ve elektroforez bölümünde açıklandığı şekilde hazırlanarak, 120 V akım varlığında 30 dakika jel elektroforezis'e tabi tutuldu. İşlem sonunda spesifik bantları UV transilluminator'de incelenerek ADRA2A C-1291G genotip analizleri yapıldı.

III. 4. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS for Windows 11.5.0 ortamında bilgisayara kaydedildi. Çapraz tablolarda Pearson Ki- kare ve Fisher exact test kullanılmıştır. Ortalamaları karşılaştırırken student t, nonparametrik verilerde Mann-Whitney U, üç ve daha çok grubu karşılaştırırken parametrik verilerde One Way ANOVA, nonparametrik verilerde Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Aynı grubun tekrarlayan ölçümleri Friedman testi ile değerlendirildi. ANOVA, Kruskal-Wallis ve Friedman testi sonrası fark bulunduğu zaman farkın hangi ikiliden kaynaklandığı post Hoc çoklu karşılaştırma testi ile araştırıldı. Tüm testlerde $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi, veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verildi.

IV. BULGULAR

IV.1. Hastaların Karakteristik Özellikleri

α_2 agonist ajan olan deksmedetomidinin etkileri ile ADRA2A gen C-1291G polimorfizmi arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için koroner arter by-pas greft cerrahisi geçiren 110 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastaların 26'sı kadın 84'ü erkek, yaş ortalamaları $57,5 \pm 10$; kilo ortalamaları $76,4 \pm 11,7$; boy ortalamaları $165,2 \pm 18,9$ olarak saptanmıştır. Hastaların demografik verileri Tablo 5'de yer almaktadır.

Kontrol grubu 50'si erkek 29'u kadın, yaş ortalamaları $57,9 \pm 12,7$; kilo ortalamaları $75,2 \pm 11,9$; boy ortalamaları $166,1 \pm 7,8$ olan, 79 hastadan oluşmaktaydı.

Tablo 5: Hastaların demografik verileri

	Demografik Veriler % (n)			
	Kadın 23,6 (26)	Erkek 76,4 (84)	Total	p değeri
Yaş	$58,3 \pm 7,7$	$57,2 \pm 10,6$	$57,5 \pm 10,0$	0,616
Kilo	$69,2 \pm 13,1$	$78,7 \pm 10,4$	$76,4 \pm 11,7$	0,0001
Boy	$157,5 \pm 7,7$	$168 \pm 21,1$	$165,2 \pm 18,9$	0,026
BMI	$27,37 \pm 3,86$	$26,9 \pm 3,5$	$27 \pm 3,5$	0,618
Alkol	0	17,9 (15)	13,6 (15)	0,020
Sigara	7,7 (2)	69,0 (58)	54,5 (60)	0,0001
Kahve	11,5 (3)	21,4 (18)	19,1 (21)	0,262
Hipertansiyon	92,3 (24)	59,5 (50)	67,3 (74)	0,002
Diyabet	50 (13)	29,8 (25)	34,5 (38)	0,058
Hiperlipidemi	61,5 (16)	65,5 (55)	64,5 (71)	0,714
KOAH*	11,5 (3)	9,5 (8)	10,0 (11)	0,765
Glukoz	$129,1 \pm 59,8$	$108,5 \pm 35,8$	$113,4 \pm 43,3$	0,034
Kolesterol	$182,9 \pm 50,1$	$196,9 \pm 49,2$	$193,8 \pm 49,5$	0,244
HDL-Kolesterol	$46,8 \pm 10,3$	$42,8 \pm 9,7$	$43,7 \pm 9,9$	0,095
LDL-Kolesterol	$110,6 \pm 43,4$	$118,5 \pm 39,8$	$116,8 \pm 40,5$	0,421
Trigliserid	$130,2 \pm 44,0$	$195,0 \pm 117,8$	$181,0 \pm 109,4$	0,013

*KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı.

Hastaların mevcut ek patolojileri ve alışkanlıkları Tablo 6'da verilmiştir. Hasta popülasyonumuzun 74'ü hipertansif, 38'i diabetes mellituslu, 70'i hiperlipidemik, 11'i kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalardan oluşmaktadır. 15 hastamızda alkol, 60 hastamızda sigara ve 21 hastamızda kahve alışkanlığı mevcuttur.

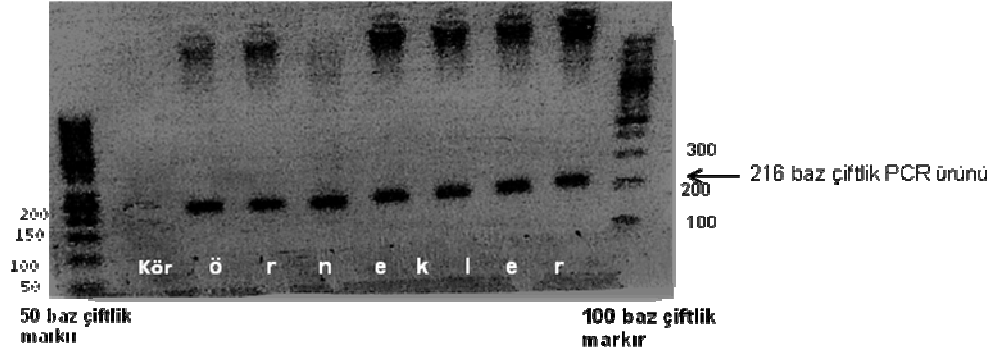
Tablo 6: Hastaların ek patolojileri ve alışkanlıkları.

	Ek Patolojiler ve Alışkanlıklar
	% (n)
HT¹	67,3 (74)
DM²	34,5 (38)
HLP³	63,6 (70)
KOAH⁴	10 (11)
Alkol	13,6 (15)
Sigara	54,5 (60)
Kahve	19,1 (21)

HT¹; hipertansiyon, DM²; diabetes mellitus, HLP³; hiperlipidemi, KOAH⁴; kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

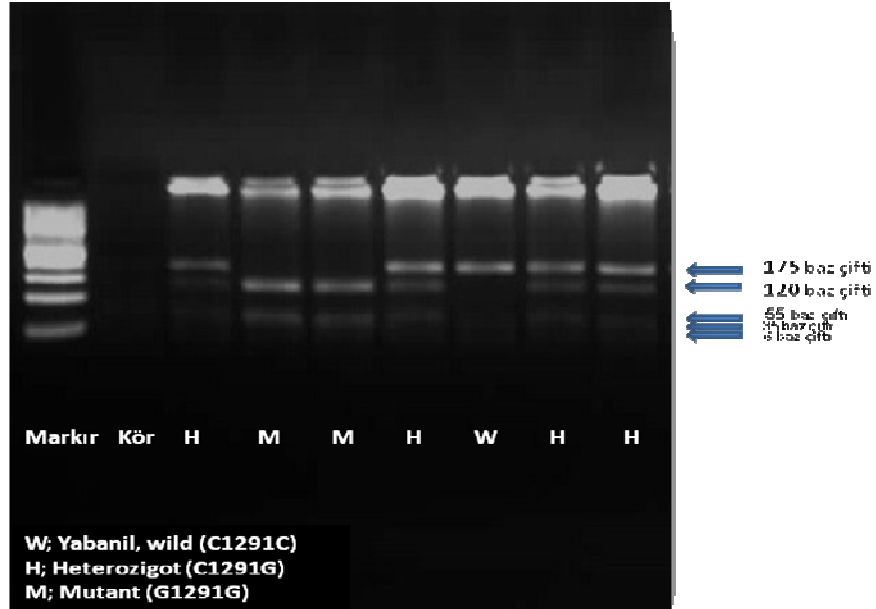
IV. 2. ADRA2A C-1291G Genotip Analizleri

İzole edilen DNA'lar; ADRA2A C-1291G genotiplemesi için belirlenmiş baz dizisinin çoğaltılması amacı ile PCR'a uygulanmıştır. Resim 5'de ADRA2A'nın PCR uygulaması sonucunda elde edilen 216 bp büyüklüğündeki ürünler görülmektedir.



Resim 5: 216 baz çiftlik PCR ürünleri.

ADRA2A C-1291G genotipinin belirlenmesi amacıyla PCR ürünleri HpaII (MspI) restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Kesim sonucunda ürünlerin %3'lük agaroz jele yüklenmesiyle; CC genotipi için 175bp, 35bp ve 6bp'de, CG genotipi için 175bp, 55bp, 35bp, 6bp'de, GG genotipi için 120bp, 55bp, 35bp, 6bp'de bantlar görülmektedir. Resim 6'da restriksiyon enzimiyle oluşan kesim ürünleri görülmektedir.



Resim 6: Restriksiyon enzimi ile oluşan kesim ürünleri.

IV.3. Genotipe Göre Karakteristik Özellikler

110 iskemik kalp hastasının ve sağlıklı kontrol grubunun genotip dağılımı ile C ve G allel frekansları Tablo 7’de görülmektedir. Sağlıklı Türk bireylerle karşılaştırıldığında G allel frekansının hasta grubunda benzer olduğu görülmektedir.

Tablo 7: ADRA2A C-1291G genotip dağılımı.

	ADRA2A Genotip Sıklığı (%)			Allel Sıklığı (%)	
	C1291C	C1291G	G1291G	C	G
Hasta Grubu	43,6	45,5	10,9	66	34
Kontrol Grubu	46,8	39,2	13,9	60	40

Hastaların genotipe göre demografik verileri ve ek hastalıkları Tablo 8 ’de yer almaktadır. Hasta grubundaki mutant bireylerin %100’ünün hiperlipidemik olduğu saptanmıştır. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında hiperlipidemi mevcudiyeti anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Mutant grubun kan glukoz düzeyi ortalamasının da diğer iki gruba göre anlamlı yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Hipertansif hastalar yönünden gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Hipertansif hastaların C allel frekansı 0,65; G allel frekansı 0,35 olarak hesaplanmıştır. Hipertansif olmayan hastalarda ise C allel frekansı 0,71; G allel frekansı 0,29 olarak hesaplanmıştır. BMİ (Body Mass index) ortalamaları üç grup arasında anlamlı fark göstermemekle birlikte, mutant grubun BMİ ortalamaları diğer iki gruba göre yüksek bulunmuştur.

Tablo 8: Hastaların genotipe göre demografik verileri.

	Genetik yapıya göre risk faktörleri % (n)			p değeri
	WT (CC) 43,6 (48)	Heterozigot (CG) 45,5 (50)	Mutant (GG) 10,9 (12)	
Cinsiyet				
Kadın	22,9 (11)	22,0 (11)	33,3 (4)	0,700
Erkek	77,1 (37)	78,0 (39)	66,7 (8)	
Yaş	58,1±10,3	56,8±9,9	57,5±9,7	0,820
Kilo	77,8±11,8	74,3±11,7	80,1±10,3	0,170
Boy	161,8±27,9	167,9±8,4	165,0±7,0	0,390
BMI	27,69±3,58	26,20±3,34	28,91±4,24	0,073
Alkol alışkanlığı	10,4 (5)	14,0 (7)	25,0 (3)	0,418
Sigara alışkanlığı	56,3 (27)	52,0 (26)	58,3 (7)	0,880
Kahve alışkanlığı	16,7 (8)	22,0 (11)	16,7 (2)	0,778
Hipertansiyon	66,7 (32)	64,0 (32)	83,3 (10)	0,437
Diyabet	29,2 (14)	36,0 (18)	50,0 (6)	0,381
Hiperlipidemi	52,1 (25)	68,0 (34)	100 (12)	0,006*
KOAH	12,5 (6)	8,0 (4)	8,3 (1)	0,744
Glukoz	109,4±42,2	109,8±31,0	144,5±73,7	0,030*
Kolesterol	184,7±45,0	199,5±53,1	208,4±49,3	0,216
HDL-Kolesterol	42,8±9,0	45,0±10,9	41,9±9,3	0,468
LDL-Kolesterol	110,5±32,3	120,1±46,9	129,1±41,4	0,302
Trigliserid	188,0±135,7	171,1±82,2	192,4±86,8	0,718

Hastaların ve kontrol grubunun genotipe göre demografik verileri ile ek hastalıkları ve iki grubun karşılaştırılması Tablo 9 'da yer almaktadır.

Tablo 9: Hasta grubu ve kontrol grubunun genotipe göre demografik verileri ve ek hastalıkları.

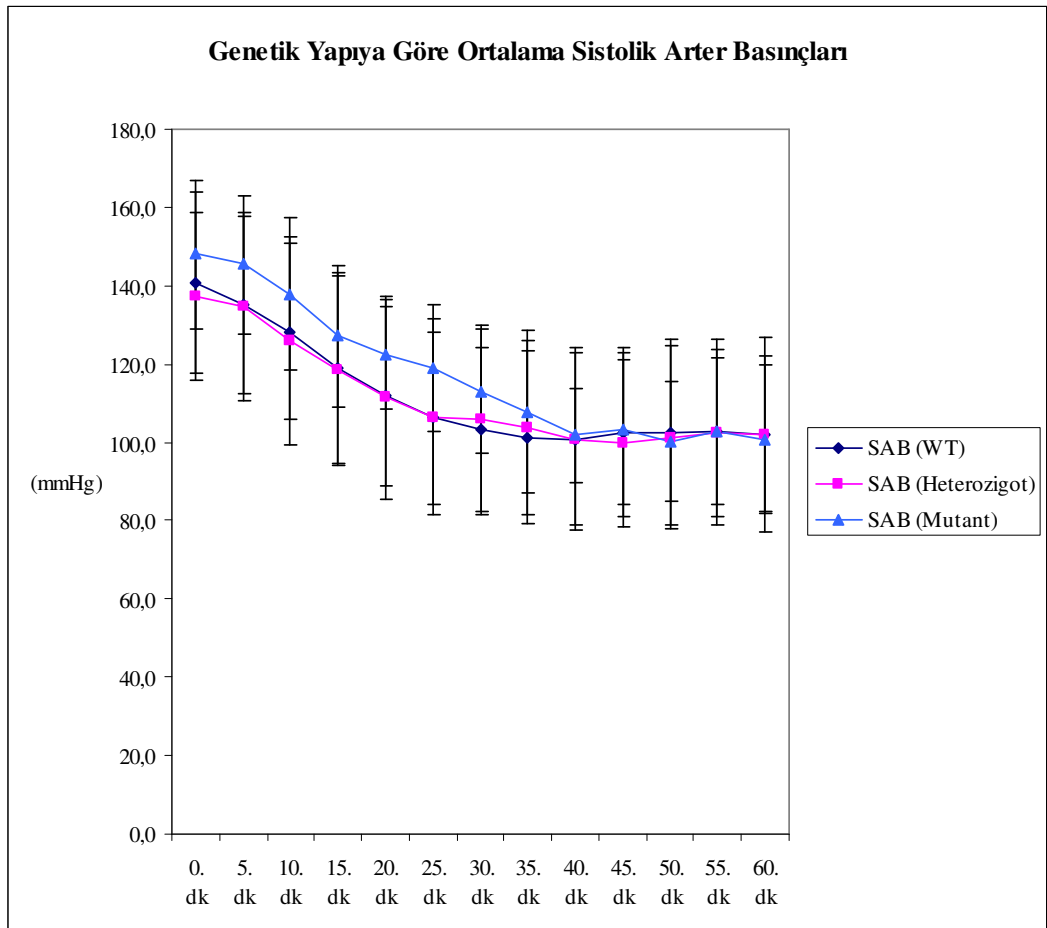
	Hasta G WT(CC) 43,6 (48)	Kontrol G WT(CC) 46,8 (37)	p değeri	Hasta G Heterozigot(CG) 45,5 (50)	Kontrol G Heterozigot (CG) 39,2(31)	p değeri	Hasta G Mutant(GG) 10,9 (12)	Kontrol G Mutant(GG) 13,9(11)	p değeri
Cinsiyet									
Kadın	22,9 (11)	45,2 (19)	0,025	22,0 (11)	71,4 (20)	0,517	33,3 (4)	77,8 (7)	0,659
Erkek	77,1 (37)	54,8 (23)		78,0 (39)	28,6 (8)		66,7 (8)	22,2 (2)	
Yaş	58,1±10,3	56,7±14,2	0,521	56,8±9,9	53,3±13,2	0,182	57,5±9,7	53,1±10,1	0,319
Kilo	77,8±11,8	73,5±11,3	0,093	74,3±11,7	78,5±11,6	0,140	80,1±10,3	73,7±12,7	0,230
Boy	161,8±27,9	165,8±7,2	0,412	167,9±8,4	166,5±7,2	0,304	165,0±7,0	167,5±10,9	0,416
BMI	27,6±3,5	26,7±3,7	0,230	26,2±3,3	28,4±4,4	0,043*	28,9±4,2	26,5±5,7	0,487
Alkol alışkanlığı	10,4 (5)	13,5 (5)	1,000	14,0 (7)	10,7 (3)	1,000	25,0 (3)	9,1 (1)	0,603
Sigara alışkanlığı	56,3 (27)	35,7 (15)	0,051	52,0 (26)	39,3 (11)	0,281	58,3 (7)	66,7 (6)	1,000
Hipertansiyon	66,7 (32)	19 (8)	0,000*	64,0 (32)	17,9 (5)	0,000*	83,3 (10)	11,1 (1)	0,002*
Diabetes Mellitus	29,2 (14)	0	0,000*	36,0 (18)	17,5 (5)	0,052	50,0 (6)	7,7 (1)	0,019*
Hiperlipidemi	52,1 (25)	0	0,000*	68,0 (34)	5 (2)	0,000*	100 (12)	23,1 (3)	0,006*

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı fark olarak kabul edilmiştir.

Hipertansiyon, diabetes mellitus ve hiperlipidemi mevcudiyeti yönünden hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark tespit edilmiştir.

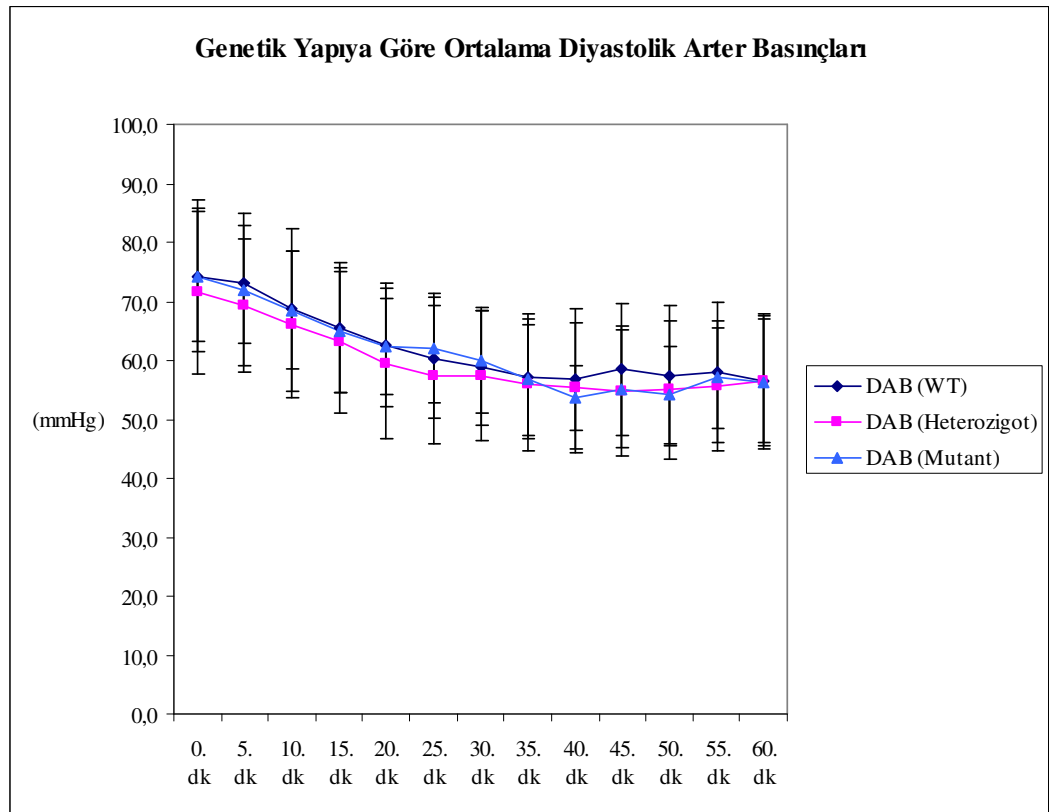
IV. 4. Hemodinamik Veriler

Genotipik yapıya göre üç gruba ayırdığımız hastaların zamana göre sistolik arter basınçlarındaki değişim grafik 1’de görülmektedir. Üç grubun zamana göre sistolik arter basınç değişimleri benzer bulunmuştur. WT grupta sistolik arter basıncı baseline değere göre %27,5; heterozigot grupta %25,6 ve mutant grupta %31,8 azalmıştır.



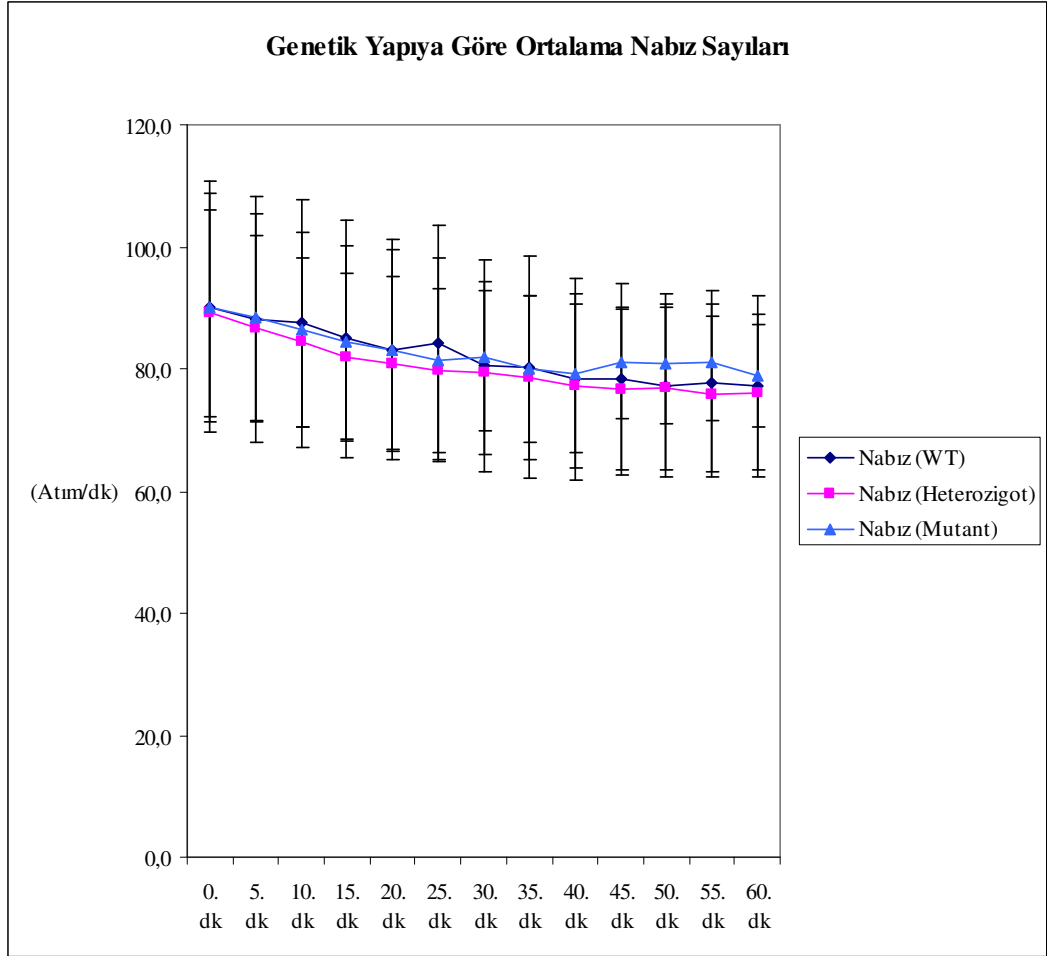
Grafik 1. Grupların ortalama sistolik arter basınçlarının zamana göre değişimi.

Genotipik yapıya göre grupların zamana göre diastolik arter basınçlarındaki değişim grafik 2’de görülmektedir. Grupların zamana göre diastolik basınç değişimleri benzer bulunmuştur. WT hasta grubunun diastolik arter basıncı baseline değere göre %23,9; heterozigot grubun %21 ve mutant grubun %24,3 oranında düşüş göstermiştir.



Grafik 2. Grupların ortalama diastolik basınçlarının zamana göre değişimi.

Grupların KAH değeri ortalamalarının zamana göre değişimi grafik 3’de görülmektedir. Grupların zamana göre KAH değerleri değişimi benzer bulunmuştur. KAH değerlerinde baseline değerlere göre WT grupta %14,5; heterozigot grupta %14,5 ve mutant grupta %12,2 azalma tespit edilmiştir.

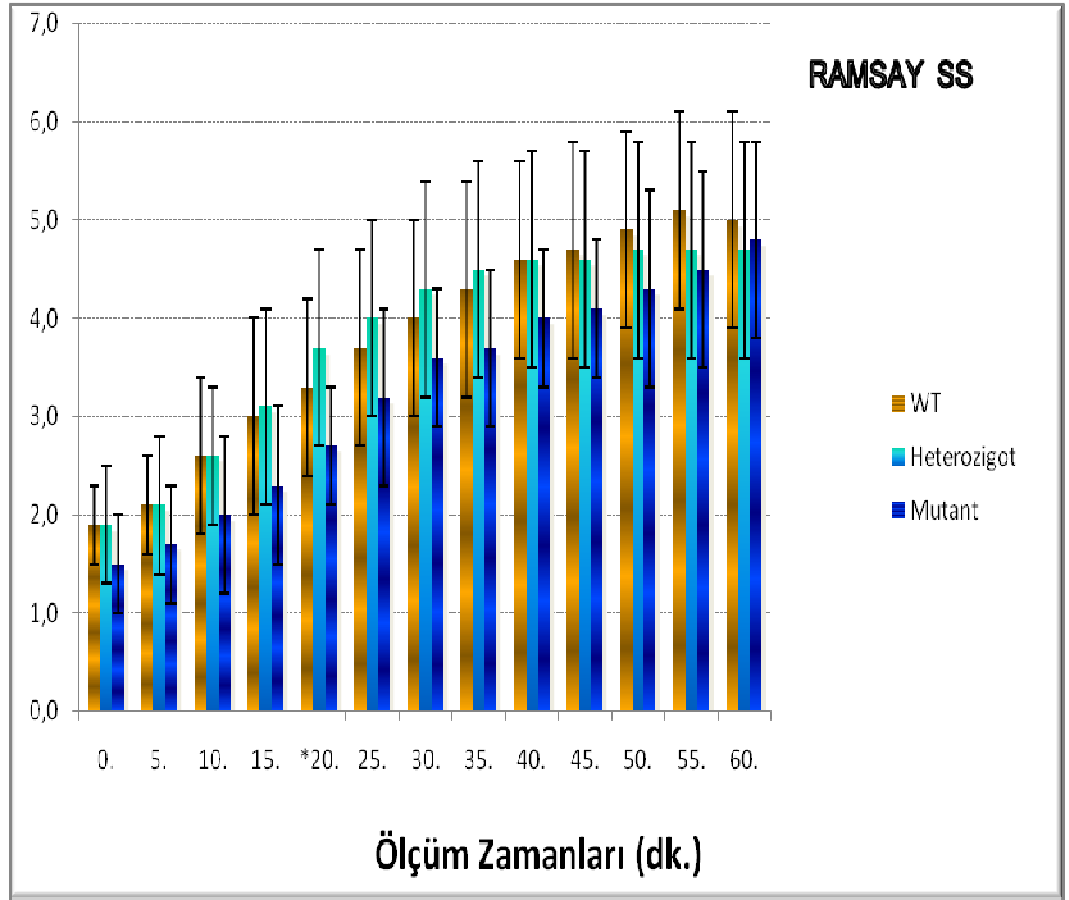


Grafik 3. Grupların ortalama KAH değerlerinin zamana göre değişimi.

IV.5. Sedasyon Verileri

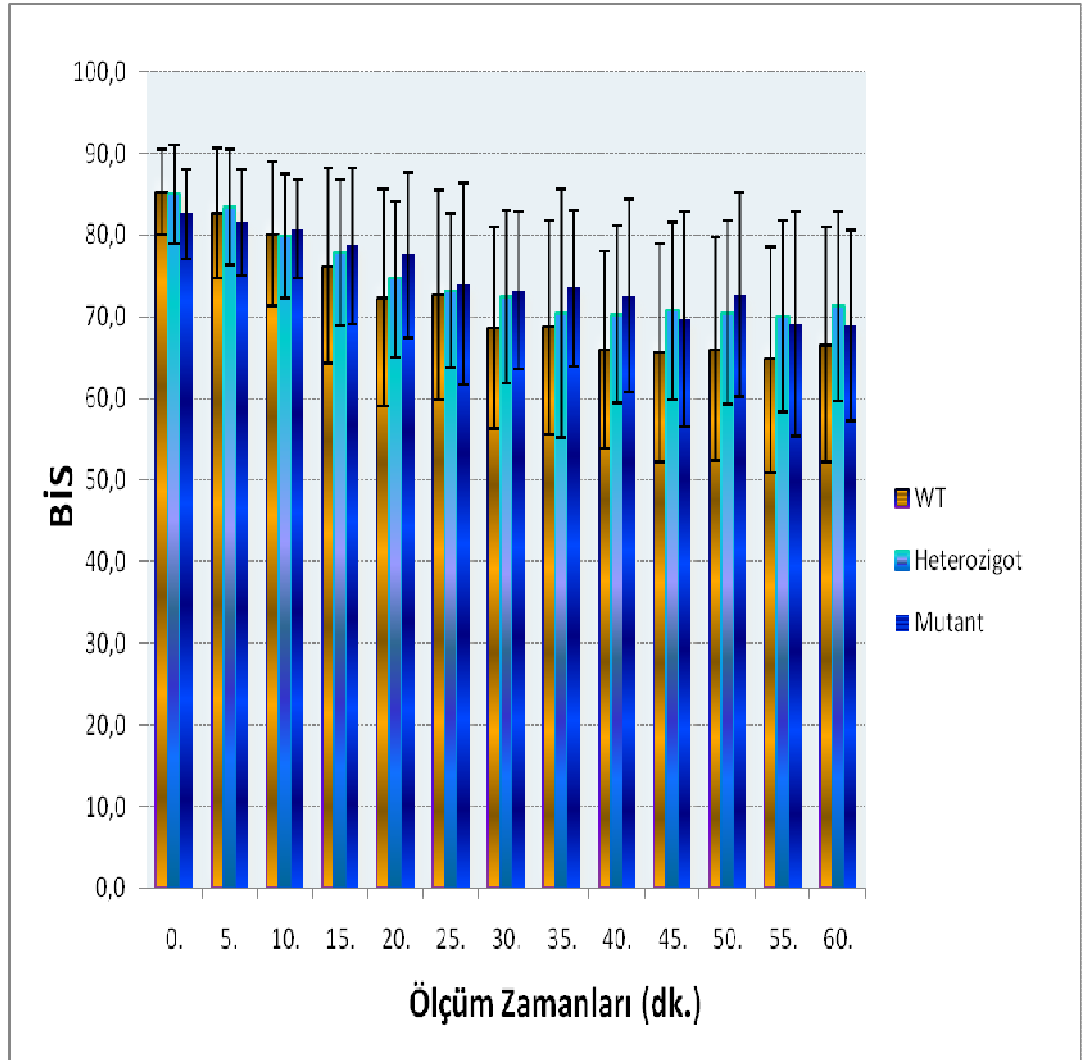
Üç grubun Ramsay sedasyon skorlarının zamana göre değişimi grafik 4'de görülmektedir. Grupların sedasyon skor ortalamalarının zamana göre değişimi benzer bulunmakla beraber 20. dakika ölçümünde mutant grubun Ramsay sedasyon skorları diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Hastaları bir saatin sonunda sedasyon sağlanan hastalar (Ramsay sedasyon skorları 5 ve 6) ile sedasyon sağlanamayan hastalar (Ramsay sedasyon skorları <5) olarak iki gruba ayırdığımızda ilk grubun G allel frekansı 0,32; ikinci

grubun G allel frekansı 0,37 olarak hesaplanmıştır. Allel frekansları arasında da fark bulunmamıştır.



Grafik 4. Grupların Ramsay skoru ortalamalarının zamana göre değişimi.

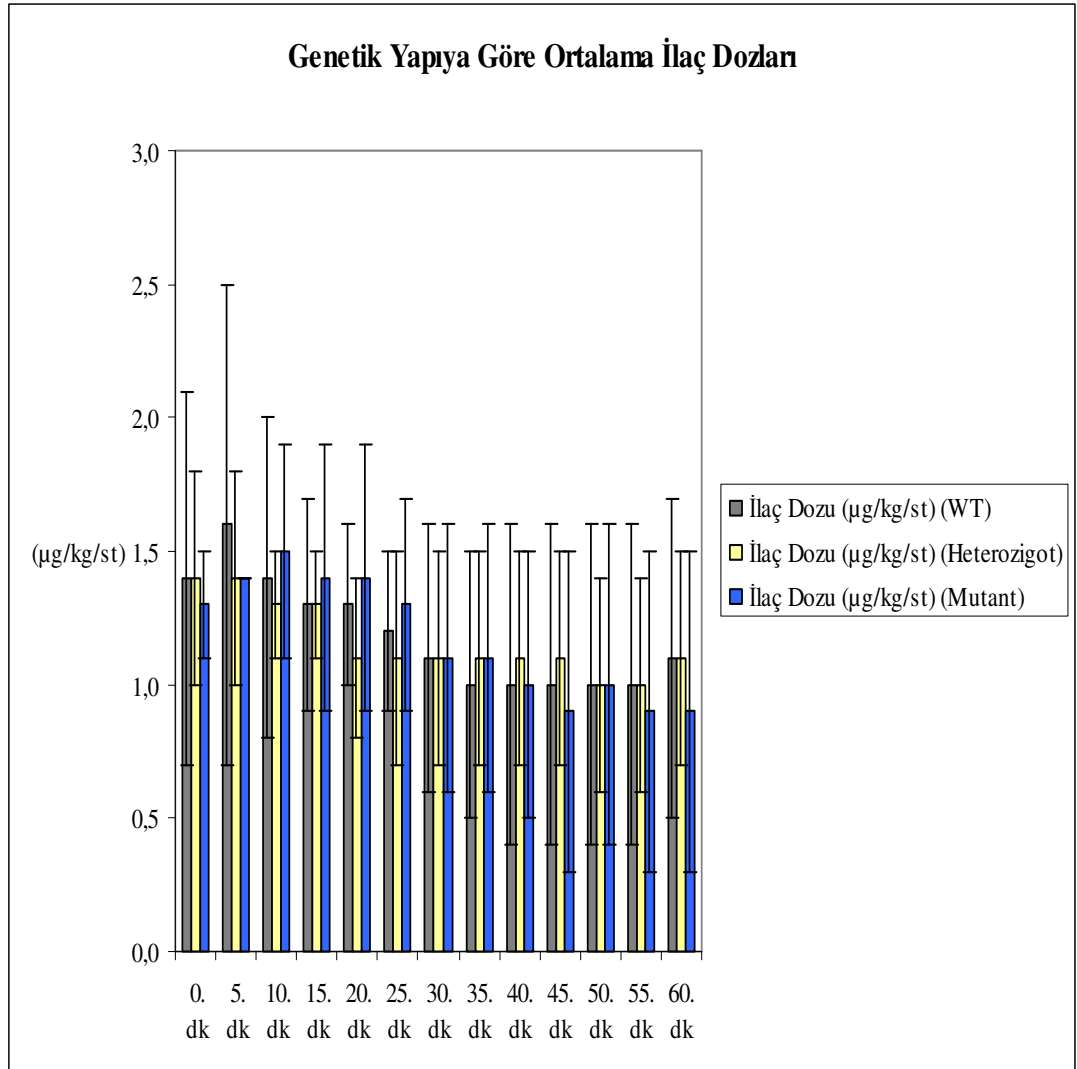
Üç grubun BİS değeri ortalamalarının zamana göre değişimi grafik 5’de görülmektedir. Grupların BİS değeri ortalamalarının zamana göre değişimi benzer bulunmuştur.



Grafik 5. Grupların BİS değeri ortalamalarının zamana göre değişimi.

IV. 6. İlaç Dozları

Grupların beşer dakikalık aralıklarla kaydedilen ilaç dozları ortalamaları grafik 6'da verilmiştir. Gruplar arasında kullanılan ilaç dozları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.



Grafik 6. Grupların ilaç doz ortalamaları.

V. TARTIŞMA

Uzun yıllardır ilaçlara ve zenobiyotiklere cevapta bireysel farklılıklar olduğu bilinmektedir. İnsan genom projesinin başlamasıyla hız kazanan genetik çalışmalar ilaç-cevap ilişkisi ve patolojik tablolar üzerinde etkili genetik faktörlerin de hızla ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Birçok ilacın hedefi durumunda olan adrenerjik sistem genetik yönden de çalışmaların hedefi olmuştur. ADRA2A ile sıklıkla psikiyatrik bozuklukların beraberliği mercek altına alınmıştır. Kişilik yapısı¹²⁷, dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu (ADHD)^{128,129}, şizofreni^{130,131,132}, intihara meyil^{133,134}, panik bozukluk¹³⁵ ve ADRA2A ilişkisini araştıran çalışmalar yoğunlaşmaktadır. α_2 -agonistik ajan olan deksmedetomidinin oluşturduğu cevap ve genetik yapı arasındaki ilişkiyi araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur. Günümüze kadar sıklıkla diğer bir α_2 -agonistik ajan olan klonidin çalışmaların merkezinde yer almıştır. Ancak α_{2A} -AR subtip selektivitesi fazla olan deksmedetomidinin çalışmalar için daha uygun bir ilaç olduğu açıktır.

Tan ve arkadaşları¹³⁶ α_{2A} -AR knockout (ilgili gen bölgesi bulunmayan) farelerde α_2 -agonistik ajanlara karşı oluşan sedasyon ve hipotansif yanıtı, Wild-type (WT) farelerde oluşan yanıtla karşılaştırmışlardır. Radyoligand bağlanma yöntemiyle farelerdeki ADRA2A yoğunluğu da ölçülen bu çalışmada bir α_2 -agonistik ajan olan deksmedetomidinin maksimal (433 $\mu\text{g/kg}$) ve supramaksimal (2,165 $\mu\text{g/kg}$) dozlarda sedasyon cevabı oluşturabilmek için %50'nin üzerinde fonksiyonel ADRA2A komponentine ihtiyaç duyduğunu saptamışlardır. WT farelere uygulanan deksmedetomidinin başlangıçta hipertansif atağa, ardından ise daha uzun süren bir hipotansif duruma ve beraberinde KAHda belirgin yavaşlamaya yol açtığı tespit edilmiştir. Knockout farelerde ise verilen deksmedetomidine hipotansif yanıt oluşmamıştır, ancak hipertansif atak yazarların yorumuna göre α_{2B} -AR alttipleri sağlam

olduğundan gözlenmiş, WT farelerdeki yanıtla karşılaştırıldığında ise daha belirgin olduğu dikkat çekmiştir. Sedatif etkinin gözlenmediği heterozigot farelerde hipotansif yanıtın gözlendiğini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmanın ışığında ve klinik deneyimlerimize dayanarak hastaların deksmedetomidine yanıtı ve ilgili reseptörü kodlayan gen polimorfizmi arasında bir bağlantı olabileceği düşüncesiyle bu çalışma planlanmıştır. Deksmetomidinin oluşturduğu sedasyonu monitorize etmek için Ramsay sedasyon skoru ve daha objektif bilgi vereceğini düşündüğümüz BIS Cihazı kullanılmıştır. İlaça karşı oluşan hemodinamik yanıt ise invaziv yöntem ile SAB, DAB, KAH ölçümleriyle monitorize edilmiştir. Bu çalışmada ADRA2A geninin promotor bölgesinde yer alan C-1291G SNP'i çalışılmıştır. 110 hastanın genotipik yapısına bakıldığında 48 hasta (%43,6) CC, 50 hasta (%45,5)CG ve 12 hasta (10,9) GG olarak tanımlanmıştır. Karahalil ve arkadaşlarının sağlıklı Türk bireylerindeki (n:203) ADRA2A C-1291G SNP araştırmasının sonuçlarına bakıldığında %31,6 CC, %57,6 CG ve %11,3 GG genotipinde oldukları görülmektedir. Genotip dağılımları benzer olmakla beraber bizim çalışmamızda CC genotip oranının daha yüksek olduğu gözlenmektedir. İki çalışmanın allel frekansları karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda C allel frekansının 0,66; G allel frekansının 0,34; sağlıklı bireylerde ise C allel frekansının 0,6; G allel frekansının 0,4 olduğu dikkati çekmektedir. İskemik kalp hastalarından oluşan bir popülasyonda önceki çalışmaların⁹⁵ sonuçları göz önünde bulundurulursa; hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi gibi eşlik eden patolojiler nedeniyle C allelinin daha yüksek çıkması beklenen sonuçtur. Çalışmamızdaki hastaların ek patolojileri ve ADRA2A C-1291G ilişkisine bakıldığında; GG genotipine sahip tüm hastaların hiperlipidemik olduğu görülmektedir ve diğer iki genotiple hiperlipidemi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (p: 0,006). Kontrol grubunda bulunan 5 hiperlipidemik hastanın heterozigot ve mutant grupta olması G alleli ve hiperlipidemi bağlantısını düşündürmektedir ancak geniş bir

populasyonun taranması faydalı olacaktır. Mutant gruptaki hastaların kan glukoz düzeylerinin de diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (p:0,030). Hipertansiyon mevcudiyeti açısından hasta ve kontrol grubunda genotipe göre üç grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Hasta grubunda hipertansif hastaların C allel frekansı 0,65; G allel frekansı 0,35 olarak hesaplanmıştır. Hipertansif olmayan hastalarda ise C allel frekansı 0,71; G allel frekansı 0,29 olarak hesaplanmıştır.

Rosmond ve arkadaşları⁹⁵ 284 sağlıklı İsveçli erkekten oluşan populasyonda ADRA2A C-1291G SNP'i ile obezite, insülin salınımı, glukoz ve lipid metabolizması, kortizol salınımı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. C allel frekansının 0,23; G allel frekansının 0,77 olarak bulunduğu bu çalışmada; C alleli taşıyan bireyleri G alleli taşıyan bireylerle karşılaştırdıklarında deksametazon supresyon testinden sonra artmış tükürük kortizolü, yüksek kan glukoz düzeyi ve sınırda anlamlı yüksek istirahat diastolik kan basıncına sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Bu çalışma ile bizim çalışmamızın sonuçları ters düşmektedir. Ancak Rosmond ve arkadaşları'nın tespit ettiği allel frekansları örnek aldıkları beyaz ırkın beklenen frekanslarına uymamaktadır ve sebebi açıklanamamıştır. Matsunaga ve arkadaşları¹³⁷ ise sağlıklı genç Japon erkeklerde ADRA2A C-1291 G polimorfizmi ve kan basıncı, kalp atım hızı değişimleri arasında bir bağlantı bulmamışlardır. Söz konusu polimorfizm ile kan basıncı arasındaki ilişkiyi araştıran çok çalışma olmamakla birlikte çalışmaların büyük kısmında bir birliktelik bulunamamıştır¹⁵. Bizim çalışmamızda da hipertansiyonla bir birliktelik bulunmamıştır. Sonuç olarak farklı sonuçlar bulan bu iki çalışma sağlıklı bireylerde yapılmıştır. Özellikle Matsunaga ve arkadaşları' nın çalışmasında incelenen genç bireylerin yaşamlarının ilerleyen yıllarında hangi tip patolojileri olacağı bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda ise populasyonumuz yaş ortalaması 57,5±10 olan hasta bireylerden oluşmaktadır ve patolojik tablonun oturmuş

olduğu bir populasyon olarak böyle bir çalışma için uygun olduğunu düşünmekteyiz. Hipertansif hastalarda trombosit ADRA2A yoğunluğu ile ilgili de çelişkili raporlar mevcuttur. Hipertansif hastalarda olduğu gibi normotansif bireylerde de trombositlerdeki artmış reseptör yoğunluğu gösterilmiştir^{138,139, 140}.

α_{2A} –AR’lerin metabolik regülasyon, plazma glukoz ve insülin düzeylerine etkisini farelerde araştıran çalışmada α_{2A} knockout farelerin bazal glukoz düzeylerinin WT'lara göre %30 daha düşük olduğu saptanmıştır. WT farelerde deksmedetomidin insülin salınımını azaltıp glukoz düzeyini yükseltmiştir, knockout farelerde ise bir etkisi olmamıştır¹⁴¹. Bu deneysel çalışma ve önceki klinik çalışmalarla bizim çalışmamızda glukoz düzeyinin mutant bireylerde yüksek olması ters düşmektedir. Kontrol grubumuzdaki 8 diyabetik hastanın heterozigot ve mutant bireyler olması da bu hipotezi desteklemektedir. Ancak C-1291G polimorfizminin fonksiyonel etkisi tam olarak bilinmeyip fizyoloji çalışmaları sonucu reseptör yoğunluğu üzerindeki etkisi tahmin edildiğinden kesin bir sonuca varmak mümkün olamamaktadır.

Bizim çalışmamızın sedasyon verileri incelendiğinde G alleli yönünden homozigot olan bireylerin Ramsay sedasyon skorlarının düşük, BIS değerlerinin nispeten yüksek seyrettiği dikkati çekmektedir. Ancak genotipik yapıya göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu çalışma deksmedetomidinin sedatif etkisi üzerindeki genetik faktörü araştıran ilk klinik çalışma olma niteliğindedir. ADRA2A genindeki diğer polimorfik bölgelerin de çalışılmasının, özellikle haplotip ve multi lokus genotip çalışmalarının ve hasta sayısının arttırılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında deksmedetomidinin neden olduğu hemodinamik değişiklikler (SAB, DAB, KAH) incelendiğinde ADRA2A C-

1291G polimorfizmi ile bir bağlantı bulunamamıştır. Bizim çalışmamız deksmedetomidine karşı oluşan hemodinamik yanıt ve ADRA2A C-1291G polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır.

Kurnik ve arkadaşları¹⁴² sağlıklı gönüllülerde yaptıkları çalışmalarında literatürde ilk olarak deksmedetomidine karşı oluşan hemodinamik cevap üzerinde etkin olabileceğini düşündükleri etnik ve genetik faktörleri araştırmışlardır. α_2 -AR agonistlere cevabı etkileyebilecek, in vitro olarak reseptör fonksiyonlarını %85 azalttığı bilinen ADRA2C del322-325'i ve α_2 -AR'lerle eşleşen G proteininin β_3 altünitesinde yer alan GNB3 C825T SNP'ini çalışmışlardır. ADRA2C 322-325 delesyonu etnik farklılık olarak siyah ırkta beyaz ırka oranla 10 kat fazla bulunmaktadır. Bu delesyon yönünden homozigot olan bireylerde α -AR antagonisti olan yohimbine cevap olarak norepinefrin ve kalp atım hızı artışı daha fazla oluşmaktadır¹⁴³. GNB3 C825T SNP'i de siyah ırkta beyaz ırkın iki katı sıklıkta bulunmaktadır. T alleli taşıyan sağlıklı beyaz bireylerin klonidin sonrası kan basıncı ve total periferik rezistansdaki azalmanın daha fazla olduğu tespit edilmiştir¹⁴⁴. Otuzyediyedi beyaz, 36 zenci gönüllü üzerinde yaptıkları bu çalışmada ne etnik farklılığın ne de genetik yapının deksmedetomidinin oluşturduğu hemodinamik cevapları etkilemediği sonucuna varmışlardır.

İlaç-cevap ve ADRA2A C-1291G polimorfizminin etkisi literatürde daha çok psikotrop ilaçları konu almıştır. Psikotik ilaçların yan etkilerinden olan kilo alımının bireysel ve etnik farklılıklar göstermesi genetik bir faktörün rol oynadığını düşündürmüştür. Klozapin tedavisinin en önemli yan etkilerinden biri olan kilo alımı ve ADRA2A C-1291G polimorfizmini araştıran bir çalışmada CC homozigot bireyler daha az kilo alırken, GG homozigot bireylerin daha çok kilo aldıkları tespit edilmiştir. Bu çalışmada kilo alımının ancak %7'sinin genetik varyasyona bağlanabileceği de belirtilmiştir⁹³. Aynı polimorfik bölge olanzapin tedavisi

alan hastalarda çalışılmış ve olanzapin tedavisi sonrası kilo artışı ile ADRA2A C-1291G polimorfizmi arasında birliktelik olduğu sonucuna varılmıştır⁹⁴. İki çalışmanın sonucu da benzerdir fakat biyolojik mekanizmasını açıklamada yetersiz kalmıştır. Ağırlıklı olan düşünce ADRA2A reseptörlerin lipid metabolizması ve termogenezde önemli rol alıyor olmasıdır. ADHD tedavisinde kullanılan metilfenidatin hastalık skorları üzerindeki etkisi ve ADRA2A C-1291G polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran bir araştırmada ise G allel taşıyan hastaların skorları 3 aylık tedavi sonunda daha yüksek bulunmuştur. Metilfenidatin etkinliği üzerinde bu poliformizmin etkisi ortaya konmuştur¹¹.

Vücut yağ dağılımı ve ADRA2A C-1291G polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada total vücut yağ dağılımı ile bir ilişki bulunamamıştır⁹. Bu tez çalışmasında da BMİ ile genotip arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Bireylerin kişilik yapısında genetik yapının önemi bilinmektedir. Adrenerjik reseptörlerin santral sinir sistemindeki lokalizasyonları ve deneysel çalışmaların sonuçları insanlardaki kişilik yapısı ve özellikle α_{2A} -AR'ler arasındaki ilişkiyi araştırmaya sevk etmiştir. 198 Çinli bireyden oluşan populasyonda MspI polimorfizmi ile kişilik yapısı arasında bir birliktelik gösterilememiştir¹²⁷.

Literatürde; ADRA2A gen yapısı ile ilişkisi olabilecek dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu (ADHD), onun yanı sıra intihara meyil, şizofreni, panik bozukluk, Gilles de la Tourette sendromu, Alzheimer hastalığı, sigara bağımlılığı gibi bozukluklar ve C-1291G polimorfizmi birlikteliğini araştıran çalışmalar mevcuttur.

İntihar farklı faktörlerin rol oynadığı bir sağlık problemidir. Genetik değişkenlerin önemli bir faktör olduğu tahmin edilmektedir. İntihar

kurbanlarının noradrenerjik sistemlerinde değişiklikler ve postmortem beyin dokusunda α_2 -AR yoğunluğunda artış tespit edilmesi araştırmacıları α_2 -AR'ler üzerinde yoğunlaştırmıştır. ADRA2A geninin 4 farklı lokusunun intiharla ilişkisinin araştırıldığı çalışmada C-1291 polimorfizmi ile bir bağlantı bulunmazken, N251K polimorfizmiyle bir bağlantı olabileceği sonucuna ulařılmıřtır¹³³. Japon kadınlarla yapılan bir çalışmada ADRA2A geninin polimorfik üç lokusu çalışılmış ve intihara meyil ile C-1291G polimorfizmi arasında ilişki bulunmuřtur¹³⁴.

Dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu (ADHD)'nun çok faktörlü bir genetik geçişi olduğu düşünölmektedir. Tedavisinde kullanılan psikostimölan maddelerin katekolamin yolağı üzerinden etki ediyor olması nedeniyle dopaminerjik ve noradrenerjik sistemin ADHD etyolojisinde rol oynadığı fikri ağır basmaktadır. Tedavisinde klonidin kullanılıyor olması bu hastalığın genetiğinde α -AR'lerin rol oynayabileceğini düşöndürmüřtür¹²⁸. Comings ve arkadaşları¹²⁹ ADHD'de ADRA2A C-1291G polimorfizminin rolünü araştırmışlar ve G alleli için homozigot olan bireylerle ADHD skorlarının yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. Bu çalışmanın ardından Xu ve arkadaşları¹⁴⁶ ADHD semptomlarını skorlamakta farklı bir test kullanarak yaptıkları çalışmada C-1291G polimorfizmi ile ADHD arasında bir bağlantı olmadığını gözlemişlerdir. Roman ve arkadaşları⁹¹ söz konusu gen ile ADHD semptomları arasında muhtemel bir ilişkiden bahsetmişlerdir. Roman ve arkadaşları¹⁴⁷ hasta sayısını arttırdıkları ikinci çalışmalarında ADRA2A; C-1291G, Hha I ve Dra I SNP'lerini çalışmışlar ve ADRA2A ile ADHD arasında bir bağlantı olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Göröldüğü gibi ADHD ve C-1291G polimorfizmi ile de çelişkili sonuçlar mevcuttur.

Alzheimer hastalığında birçok nörotransmitter sisteminde değişiklikler olduğu bilinmektedir. Prefrontal kortekste α_2 -AR sayısında azalma olduğu da tespit edilmiřtir¹⁴⁵. Alzheimer hastalığı ve α -AR ilişkisini

inceleyen bir araştırmada α_1 -AR PstI ve α_2 -AR HpaII polimorfizmleri çalışılmış ve her iki polimorfizmin bu hastalığa yatkınlıkta önemli bir rol oynamadığı sonucuna ulařmıřlardır⁹².

Sigara ve alkol bağımlılığı ile ADRA2A C-1291G polimorfizmi beraberliğini inceleyen çalışmada sigara içen bireylerde G allel frekansı kontrol bireylere oranla yüksek bulunmuřtur⁹⁰. Bizim alışmamızda ise sigara içen ve içmeyen hastalardaki allel frekansları aynı bulunmuştur (C allel frekansı 0,66 ve G allel frekansı 0,34).

şizofreniye yatkınlık ve ADRA2A C-1291G polimorfizmini inceleyen çalışmalar aralarında bir bağlantı olmadığı sonucuna ulaşmışlardır^{130,131,132}.

VI. SONUÇ

ADRA2A C-1291G polimorfizmi ile α agonistik ajan olan deksmedetomidine karşı oluşan sedasyon ve hemodinamik yanıt arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için planlanan bu çalışmada C-1291G polimorfizminin ilaca yanıtı etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışma deksmedetomidine yanıt ve C-1291G polimorfizminin etkisini araştıran ilk çalışmadır. Literatürde klinik çalışma olarak mevcut bir çalışma vardır ve ADRA2A genindeki farklı polimorfizmler ile deksmedetomidinin hemodinamik yanıtı arasında bir ilişki tespit edilmemiştir.

Bu çalışmada önceki çalışmalarla çelişecek şekilde hiperlipidemi ve kan glukoz düzeyi yüksekliği ile G alleli arasında bir birliktelik bulunmuştur. ADRA2A geninde tek bir SNP çalışmış olmamız ve mutant hasta sayımızın az olması çalışmanın gücünü düşürmektedir. Ancak literatürde ADRA2A gen polimorfizmleri ve patolojik tablolar arasındaki bağlantılar yönünden de çelişkili sonuçlar olması konuyla ilgili daha fazla yayına ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

VII. ÖZET

Uzun yıllardır, kullanılan ilaçlara oluşan yanıtın bireysel farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. İlk olarak ilaçları metabolize eden enzimlerin aktivitelerinin bireysel farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, günümüzde yalnızca enzimlerin değil, taşıyıcıların ve ilacın hedefi durumundaki reseptörlerin de bireylerarası farklılık gösterdiği bilinmektedir. Farmakogenetik bilim dalının gelişmesiyle ilacı metabolize eden enzimler, taşıyıcı proteinler ve reseptörleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar açığa çıkarılmaya başlanmıştır.

Piyasada mevcut ilaçların üçte birinin adrenerjik sistem için agonist veya antagonist olduğu düşünülürse adrenerjik sistemin farmakogenetikteki önemi anlaşılabilir. Adrenerjik reseptör-ilac ve reseptör-patolojik durum beraberliğini araştıran çok fazla çalışma mevcuttur.

Deksmedetomidin; 1999 yılının sonlarında Amerika Gıda ve İlaç Teşkilatı (FDA) tarafından erişkin yoğun bakım hastalarında kısa süreli (<24 saat) infüzyon ile sedasyon amaçlı kullanımı onaylanmış bir sedatif ilaçtır. Deksmedetomidin α_2 -AR lere klonidine göre sekiz kat fazla afinite gösterir. α_2 agonistik etkisi α_1 agonistik etkisine göre 1620 kat daha fazla potenttir. Bu ilacın, etkilerini α_{2A} -AR'ler aracılığıyla gösterdiği ispatlanmıştır. Bu ilaca yanıt ile ilacın hedefi durumundaki α_{2A} -AR kodlayan genin yapısı arasındaki bağlantıyı araştıran bir klinik çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada, deksmedetomidinin etkilerinde aracılık eden α_{2A} -AR C-1291G gen polimorfizminin ilaç etkinliğine olan etkisi araştırılmıştır. Koroner arter bay-pas greft cerrahisi geçiren 110 hastadan polimorfizm tayini için kan örnekleri alınmış ve operasyon bitiminde BIS

monitorizasyonu ve Ramsay sedasyon skalası ile uyanıklık durumları takip edilmiştir. Genotip sıklığı %43.6 (n=48) WT (CC), %45.5 (n=50) heterozigot (CG) ve %10.9 (n=12) mutant (GG) olarak bulunmuştur. Hiperlipidemi ile α_{2A} -AR C-1291G gen polimorfizmi arasındaki bağlantı bu çalışmada da ortaya konmuştur. G-1291G genotipine sahip mutant bireylerin tümünün hiperlipidemik olduğu ve diğer iki gruba karşılaştırıldığında anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Mutant bireylerin kan glukoz düzeyleri de diğer iki gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Genotipe göre sedasyon ölçüm değerlerimiz olan BIS ve Ramsay sedasyon skorlarının zamana göre değişiminde mutant bireylerin daha yavaş uyuduğu gözlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur. Genotipik yapıya göre sistolik arter basıncı, diastolik arter basıncı ve kalp atım hızının zamana göre değişiminde de gruplararası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak; α_{2A} -AR C-1291G polimorfizminin deksmedetomidinin klinik etkileriyle bağlantısı bulunmamıştır. Ancak ileriki çalışmalarda hasta sayısının artırılması veya farklı polimorfik bölgelerin çalışılmasının faydalı olabileceği görüşündeyiz.

VIII. SUMMARY

The existence of variations in drug response have been known for a long time. Firstly, it was discovered that the activities of drug metabolizing enzymes show interindividual dissimilarity. However, nowadays, it is clear that not only enzymes but also carriers and receptors have genetic variations. In the scope of the growing pharmacogenetics knowledge, mutations in the gene coding region for enzymes, carrier proteins and receptors have been found. Since one-third of all drugs in market are adrenergic agonist and antagonist, the pharmacogenetic importance of the adrenergic system is obvious. There are many studies indicating the association between drug-receptor and disease-receptor interaction.

Dexmedetomidine is a sedative drug, whose use in intensive care units patients confirmed by USA-Food and Drug Administration (FDA) by the end of 1999. The affinity of dexmedetomidine to α_2 - receptor is eight times higher than that of clonidine. α_2 -agonistic effect of dexmedetomidine is 1620 times higher than its α_1 -agonistic effect. It was proven that dexmedetomidine indicates its clinic effect via α_{2A} -AR. There has been no investigation in clinic indicating the association with dexmedetomidine and α_{2A} -AR gene polymorphism.

In the present study, the association with α_{2A} -AR C-1291G gene polymorphism and the effect of dexmedetomidine was investigated. Blood samples for assessment of α_{2A} -AR C-1291G gene polymorphism were collected from 110 patients undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery and right after the operation the patients were followed for wakefulness by BIS monitorization and Ramsay sedation scale.

We found the frequencies of the genotypes WT (CC); 43,6% (n=48), heterozygous (CG); 45,5% (n=50) and variant (GG); 10,9 % (n=12). Our results showed that there was a relationship between α_{2A} -AR C-1291G gene polymorphism and hiperlipedemia. All patients carrying G-1291G variant genotype were hiperlipidemic and there was a statistical significance compared to other genotypes (C129G and C1291C) ($p<0,05$). We observed similar results with blood-glucose levels; patients with mutant homozygous genotypes had higher blood-glucose levels than patients with heterozygous and wild genotypes ($p<0,05$).

Patients with mutant homozygous are fallen sleep slower than patients with heterozygous and wild genotypes in terms of BIS and Ramsay Sedation Scores, however the results were not statistically significant. There was not a significant association with systolic and diastolic artery pressure and heartbeat with α_{2A} -AR C-1291G gene polymorphism.

In conclusion, there was no association between α_{2A} -AR C-1291G polymorphism and clinic effects of dexmedetomidine. Further investigations are needed with larger sample size in combination with other gene polymorphisms.

IX. KAYNAKLAR

- 1- Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. J Int Med 2001; 250: 186-200.
- 2- Shah RR. Pharmacogenetics in drug regulation: promise, potential and pitfalls. Phil Trans R Soc B 2005; 360: 1617-1638.
- 3- Lanfear DE, Mcload HL. Pharmacogenetics: using DNA to optimize drug therapy. Am Fam Physician 2007; 76: 1179-82.
- 4- Insel PA. Adrenergic receptors- evolving concepts and clinical implications. New Engl J Med 1996; 334: 580-585.
- 5-Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP, et al. IV. International Union of Pharmacology nomenclature af adrenoceptors. Pharm Rev 1994; 46 (2): 121-136.
- 6- Hein L. Adrenoceptors and signal transduction in neurons. Cell Tissue Res 2006; 326: 541-551.
- 7- Calzada BC, De Artinano AA. Alpha-adrenoceptor subtypes. Pharmac Res 2001; 44(3): 195-208.
- 8- Boucher J, Castan-Laurell I, Le Lay S, Grujic D, Sibrac D, Krief S, et al. Human α 2A-adrenergic receptor gene expressed in transgenic Mouse adipose tissue under the control of its regulatory elements. J Mol Endocrin 2002; 29: 251-264.
- 9- Garenc C, Pérusse L, Chagnon YC, Rankinen T, Gagnon J, Borecki IB, et al. The Alpha2-Adrenergic Receptor Gene and Body Fat Content and

Distribution: The HERITAGE Family Study. *Molecular Medicine* 2002,8(2): 88–94.

10- Feng J, Sobell JL, Heston LL, Goldman D, Cook Jr E, Kranzler HR, et al. Variants in the α_{2A} -adrenergic receptor gene in psychiatric patients. *Neuropsychiatr Genet* 1998; 81: 405-410.

11- Polanczyk G, Zeni C, Genro JP, Guimaraes GP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA. Association of the adrenergic α_2a receptor gene with methylphenidate improvement of inattentive symptoms in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2007; 64: 218-224.

12- Fraser CM, Arakawa S, Mc Combie WR, Venter JC. Cloning, sequence analysis and permanent expression of a human α_2 -adrenergic receptor in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 11754-11761.

13- Nicholas AP, Pieribone V, Hokfelt T. Distributions of mRNA's for α_2 -adrenergic receptor subtypes in rat brain: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol* 1993; 328: 575-594.

14- Coursin DB, Coursin DB, Maccioli GA. Dexmedetomidine. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7: 221-226.

15- Lario S, Calls J, Cases A, Oriola J, Torras A, Rivera F. MspI identifies a biallelic polymorphism in the promoter region of the α_{2A} -adrenergic receptor gene. *Clin Genet* 1997; 51: 129-130.

16- Motulsky AG. Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *JAMA* 1957; 165: 835-837.

- 17- Vogel F. Moderne problem der humangenetik. *Ergeb Inn Med Kinderheilk* 1959; 12: 52-125.
- 18- Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 2003; 348: 529-37.
- 19- Kalow W. Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet* 1956; 2: 576-7.
- 20- Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000; 356: 1667-71.
- 21- Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med* 2001; 7: 201-4.
- 22- McCharty AD, Kennedy JL, Middleton TL. Pharmacogenetics in drug development. *Phil Trans R Soc B* 2005; 360:1579-1588.
- 23- Clinical Pharmacology; Cesari Sirtori (editor-in-chief), Jochen Kuhlmann, Jean-Paul Tillement, Božidar Vrhovac (editors), Marcus Reidenberg (consulting editor). McGraw-Hill 2000.
- 24- Schork NJ, Fallin D, Lanchbury S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet* 2000; 58: 250-264.
- 25- Smouse PE, Chevillon C. Analtical aspects of population-specific DNA fingerprinting for individuals. *Journal of Heredity* 1998; 89: 143-150.
- 26- Gray IC, Campbell DA, Spurr NK. Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics. *Hum Mol Genet* 2000; 9 (16): 2403-2408.

- 27- Jeffreys AJ, Ritchie A, Neumann R. High resolution mapping of crossovers in human sperm defines a minisatellite-associated recombination hotspot. *Mol Cell* 1998; 2: 267-273.
- 28- Jeffreys AJ, Murray J, Neumann R. High resolution analysis of haplotype diversity and meiotic crossover in the human TAP2 recombinant hotspot. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 725-733.
- 29- Eberhard Passarge, editor. *Color Atlas of Genetics*. NewYork:3rd edition, Thieme; 2007.
- 30- Mullis KB, Faloona F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzimol.* 1987; 155: 335-350.
- 31- Mullis KB, Faloona F, Scharf SJ, Saiki RK, Horn GT, Erlich HA. Specific enzyme amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 263-273.
- 32- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, et al. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988; 239: 487-91.
- 33- Stark GR, Wahl GM: *Gene Amplification*. *Ann Rev Biochem* 1984; 53,447-491.
- 34- Pasternak JJ. *An introduction to human molecular genetics: mechanism of inherited diseases*. NewYork: John Wiley and Sons, Inc; 2005.

- 35- Bottema CD, Sommer SS. PCR amplification of specific alleles: rapid detection of known mutation and polymorphisms. *Mutat Res* 1993; 288:93-102.
- 36- Dennis Lo Y.M., *Clinical Applications of PCR*. 3-10, Humana Press Inc., 1998.
- 37- Hayashi PH, Zeldis BJ. Polymerase chain reaction in gastroenterology. *J Clin Gastroenterol* 1993; 16(4): 329-32.
- 38- Costa LG, Hodgson E, Lawrence DA, Reed DJ, GreenLee WF. *Current protocols in toxicology*. New York: John Wiley and Sons, Inc; 2005.
- 39- Erlich HA. The design and optimization of the PCR. In *PCR technology: Principles and applications for DNA amplification*. New York: Stockton Press; 1989.
- 40- Jeffreys AJ, Wilson V, Neumann R, Keyte J. Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction: Towards DNA fingerprinting of single cells. *Nucl Acids Res* 1988; 16(10): 953-971.
- 41- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science; 2002.
- 42- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RV. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1980; 32: 314-331.
- 43- Bylund DB. Subtypes of α_1 - and α_2 -adrenergic receptors. *FASEB J* 1992; 6: 832-839.

- 44- Cannon WB, Rosenblueth A. Autonomic neuro-effector systems. The Macmillan Company, 1937.
- 45- Dale HH. On some physiological actions of ergot. J Physiol 1906; 34: 163-206.
- 46- Nickerson M. The pharmacology of adrenergic blockade. Pharmacol Rev 1949; 1: 27-101.
- 47- Ahlquist RP. A study of the adrenotropic receptors. Am J Physiol 1948; 153: 586-600.
- 48- Scofield MA, Deupree JD, Bylund DB. Adrenergic receptor genes. Molecular Biotechnology
- 49- Starke K, Montel H, Gayk W, Merker R. Comparison of the effects of clonidine on pre- and postsynaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1974; 285: 133-150.
- 50- Langer SZ. Presynaptic regulation of catecholamine release. Br J Pharmacol 1974; 60: 481-497.
- 51- Berthelsen S, Pettinger WA. A functional basis for the classification of α -adrenergic receptors. Life Sci 1977; 21: 595-606.
- 52- Ruffolo RR, Nichols AJ, Stadel JM, Hieble JP. Structure and function of α -adrenoceptors. Pharmacol Rev 1991; 43: 475-505.
- 53- Kobilka BK, Matsui H, Kobilka TS, Yang-Feng TL, Francke U, Caron MG, Lefkowitz RJ, Regan JW. Cloning, sequencing, and expression of the

gene coding for the human platelet α_2 -adrenergic receptor. Science 1987; 238: 650-656.

54- Flordellis C, Manolis AS, Scheinin M, Paris H. Clinical and pharmacological significance of α_2 -adrenoceptor polymorphisms in cardiovascular diseases. J I Card 2004; 97: 367-72.

55- Kamibayashi T, Maze M. Clinical uses of α_2 -adrenergic agonists. Anesthesiology 2000; 93:1345-9.

56- Lomasney JW, Cotecchia S, Lefkowitz, RJ, Caron MG. Molecular biology of alfa-adrenergic receptors: Implications for receptor classification and for structure-function relationships. Biochem Biophys Acta 1991; 1095:127-39.

57- MacDonald E., Kobilka BK., Scheinin M. Gene targeting: homing in on alfa2 adrenoceptor subtype function. Trends Pharmacol Sci 1997; 18: 211-9.

58- Hayashi Y, Rabin BC, Guo TZ, Maze M. Role of pertussis toxin-sensitive gproteins in the analgesic and anesthetic actions of α_2 -adrenergic agonists in the rat. Anesthesiology 1995; 83: 816-22.

59- Maze M, Tranquilli W. α_2 -adrenoceptor agonists: defining their role in clinical anesthesia. Anesthesiology 1991; 74: 581-605.

60- Nacif-Coelho C, Correa-Sales C, Chang LL, Maze M. Perturbation of ion channel conductance alters the hypnotic response to the α_2 -adrenergic agonist dexmedetomidine in the locus ceruleus of the rat. Anesthesiology 1994; 81: 1527-34.

- 61- Small KM, Forbes SL, Brown KM, Liggett SB. An asn to lys polymorphism in the third intracellular loop of the human α_2A –adrenergic receptor imparts enhanced agonist promoted Gi coupling. *The J Bio Chem* 2000; 275: 38518-38523.
- 62- Hein L, Altman JD, Kobilka BK. Two functionally distinct alpha2-adrenergic receptors regulate sympathetic neurotransmission. *Nature* 1999; 11: 181-4.
- 63- Ruffolo RR Jr, Nichols AJ, Stadel JM, Hieble JP. Pharmacologic and therapeutic applications of alpha 2-adrenoceptor subtypes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1993; 33: 243-79.
- 64- MacMillan LB, Hein L, Smith MS, Piascik MT, Limbird LE. Central hypotensive effects of the α_2A –adrenergic receptor subtype. *Science* 1996; 273: 801-803.
- 65- Altman JD, Trendelenburg AU, Macmillan L, Bernstein D, Limbird L, Starke K, Kobilka BK, Hein L. Abnormal regulation of the sympathetic nervous system in α_2A –adrenergic receptor knockout mice. *Mol Pharmacol* 1999; 54: 154-161.
- 66- Link RE, Desai K, Hein L, Stevens ME, Chruscinski A, Bernstein D, et al. Cardiovascular regulation in mice lacking α_2 –adrenergic receptor subtypes B and C. *Science* 1996; 273: 803-5.
- 67- Regan JW, Kobilka TS, Yang-Feng TL, et al. Cloning and expression of a human kidney cDNA for an alpha 2-adrenergic receptor subtype. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 6301-5.

- 68- Lomasney JW, Lorenz W, Allen LF, et al. Expansion of the alpha 2-adrenergic receptor family: cloning and characterization of a human alpha 2-adrenergic receptor subtype, the gene for which is located on chromosome 2. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 5094-8.
- 69- Philipp M, Brede M, Hein L. Physiological significance of alpha(2)-adrenergic receptor subtype diversity: one receptor is not enough. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 283: 287-95.
- 70- Kable JW, Murrin LC, Bylund DB. In vivo gene modification elucidates subtype-specific functions of alpha(2)-adrenergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 293: 1-7.
- 71- Kurnik D, Muszkat M, Li C, Sofowora GG, Solus J, Xie HG, Harris PA, et al. Variations in the α_{2A} -adrenergic receptor gene and their functional effects. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 173-185.
- 72- Makarists KP, Johns C, Gavras I, Altman JD, Handy DE, Bresnahan MR, et al. Sympathoinhibitory function of the alpha(2A)-adrenergic receptor subtype. *Hypertension* 1999; 34:403-7.
- 73- Williams PD, Puddey IB, Beilin LJ, Vandongen R. Genetic influences on plasma catecholamines in human twins. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 794-9.
- 74- Snieder H, Harshfield GA, Treiber FA. Heritability of blood pressure and hemodynamics in African- and European-American youth. *Hypertension* 2003; 41: 1196-1201.
- 75- Lafontan M, Berlan M. Fat cell alpha 2-adrenoceptors: the regulation of fat cell function and lipolysis. *Endocr Rev* 1995; 16: 716-738.

- 76- Niddam R, Angel I, Bidet S, Langer SZ. Pharmacological characterization of alpha-2 adrenergic receptor subtype involved in the release of insulin from isolated rat pancreatic islets. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254: 883-7.
- 77- Hunter JC, Fontana DJ, Hedley LR, Jasper JR, Lewis R, Link RE, et al. Assessment of the role of alpha2-adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 1339-44.
- 78- Freeman K, Farrow S, Schmaier A, Freedman R, Schork T, Lockette W. Genetic polymorphism of the alpha2-adrenergic receptor is associated with increased platelet aggregation, baroreceptor sensitivity, and salt excretion in normotensive humans. *Am J Hipertens* 1995; 8: 863-9.
- 79- Schramm NL, McDonald MP, Limbird LE. The alpha(2a)-adrenergic receptor plays a protective role in Mouse behavioral models of depression and anxiety. *J Neurosci* 2001; 21: 4875-82.
- 80- Berkowitz DE, Price DT, Bello EA, Page SO, Schwinn DA. Localization of messenger RNA for three distinct alpha 2-adrenergic receptor subtypes in human tissues. Evidence for species heterogeneity and implications for human pharmacology. *Anesthesiology* 1994; 81: 1235-1244.
- 81- Handy DE, Flordellis CS, Bogdonova NN, Brsnahan MR, Gavras H. Diverse tissue expression of rat alpha 2-adrenergic receptor genes. *Hypertension* 1993; 21: 861-65.
- 82- Lakhani PP, MacMillan LB, Guo TZ, McCool BA, Lovinger DM, Maze M, Limbird LE. Substitution of a mutant alpha2a-adrenergic receptor via "hit and run" gene targeting reveals the role of this subtype in sedative,

analgesic, and anesthetic sparing responses in vivo. PNAS 1997; 90: 9950-55.

83- Lahdesmaki J, Sallinen J, MacDonald E, Kobilka BK, Fagerholm V, Scheinin M. Behavioral and neurochemical characterization of alpha2A-adrenergic receptor knockout mice. Neuroscience 2002; 113: 289-99.

84- Lahdesmaki J, Sallinen J, MacDonald E, Sirvio J, Scheinin M. α_2 – Adrenergic drug effects on brain monoamines, locomotion, and body temperature are largely abolished in mice lacking the α_{2A} –adrenoceptor subtype. Neuropharmacol 2003; 44: 882-892.

85- Belfer I, Buzas B, Hipp H, Philips G, Taunman J, Loricz I, et al. Haplotype-based analysis of alpha 2A, 2B, and 2C adrenergic receptor genes captures information on common functional loci at each gene. J Hum Genet 2005; 50: 12-20.

86- Small KM, Brown KM, Seman CA, Theiss CT, Liggett SB. Complex haplotypes derived from noncoding polymorphisms of the intronless α_{2A} – adrenergic gene diversify receptor expression. PNAS 2006; 103: 5472-77.

87- Lockette W, Chosh S, Farrow S, et al. α_{2A} – Adrenergic receptor gene polymorphism and hypertension in blacks. Am J Hypertension 1995; 8: 390-94.

88- Oppert JM, Tourville J, Chagnon M, Mauriege P, Dionne FT, Perusse L, Bouchard C. DNA polymorphisms in the alpha2- and beta2-adrenoceptor genes and regional fat distribution in humans: association and linkage studies. Obes Res 1995; 3: 249-55.

- 89- Ukkola O, Rankinen T, Weisnagel SJ, Sun G, Perusse L, Chagnon YC, Despres JP, Bouchard C. Interactions among the alpha2- beta2, and beta 3- adrenergic receptor genes and obesity related phenotypes in the Quebec Family Study. *Metabolism* 2000; 1063-70.
- 90- Prestes AP, Marques FZC, Hutz MH, Roman T, Bau CHD. Tobacco smoking and the ADRA2A C-1291G polymorphism. *J Neural Transm* 2007; 114: 1503-6.
- 91- Roman T Schimitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the α_{2A} – adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Neuropsych Gen* 2003; 120B: 116-120.
- 92- Hong CJ, Wang YC, Liu TY, Liu HC, Tsai SJ. A study of alpha-adrenoceptor gene polymorphisms and Alzheimer disease. *J Neural Transm* 2001; 108: 445-450.
- 93- Wang YC, Bai YM, Chen JY, Lin CC, Lai IC, Liou YJ. Polymorphism of the adrenergic receptor alpha 2a-1291C>G genetic variation and clozapine-induced weight gain. *J Neural Transm* 2005; 112: 1463-1468.
- 94- Park YM, Chung YC, Lee SH, Lee KJ, Kim H, Byun YC, et al. Weight gain associated with the α_{2A} – adrenergic receptor -1291C/G polymorphism and olanzapine treatment.
- 95- Rosmond R, Bouchard C, Björntorp P. A C-1291G polymorphism in the α_{2A} – adrenergic receptor gene (ADRA2A) promoter is associated with cortisol escape from dexamethasone and elevated glucose levels. *Journal of Internal Medicine* 2002; 251: 252-257.

- 96- Bhana N, Goa KL, McClellan KJ. Dexmedetomidine. *Drugs* 2000; 59: 263-268.
- 97- Bradley C. Dexmedetomidine-a novel sedative for postoperative sedation. *Intens Crit Care Nurs* 2000; 16: 328-9.
- 98- Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists: their pharmacology and therapeutic role. *Anesthesia* 1999; 54 146-165.
- 99- Douglas BC, Coursin DB, Maccioli GA. Dexmedetomidine. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7: 221-226.
- 100- Precedex product label, Abbott Laboratories Inc.
- 101- Gertler R, Brown HC, Mitchell DH, Silvius E. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *BMUC Proceedings* 2001; 14: 13-21.
- 102- Mantz J. Dexmedetomidine. *Drugs of Today* 1999; 35: 151-157.
- 103- Maze M. Clinical uses of alpha2 agonists. In Barash PG, ed. *The American Society of Anesthesiologists*. Philadelphia: Lippincott JB, 1992: 133-42.
- 104- Aantaa R, Kallio A, Virtanen R. Dexmedetomidine, a novel alpha-2 adrenergic agonist. A review of its pharmacodynamic characteristics. *Drugs of the Future* 1993; 18: 49-56.
- 105- Venn RM, Bradshaw CJ, Spencer R, Brealey D, Caudwell E, Naughton C, Vedio A, et al. Preliminary UK experience of

dexmedetomidine, a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia* 1999; 54: 1136-1142.

106- Eisenach JC, Shafer SL, Bucklin BA, Jackson C, Kallio A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology* 1994; 80:1349-59.

107- Fisher B, Zornow MH, Yaksh TL. Antinociceptive properties of intrathecal dexmedetomidine in rats. *Eur J Pharmacol* 1991; 192: 221-5.

108- Maze M, Fujinaga M. Alpha 2-adrenoceptors in pain modulation: which subtype should be targeted to produce analgesia ? *anesthesiology* 2000; 92: 934-936.

109- Aho MS, Erkola OA, Scheinin H, Lehtinen AM, Korttila K. Effect of intravenously administered dexmedetomidine on pain after laparoscopic tubal ligation. *Anesth Analg* 1991; 73: 112-8.

110- Belleville JP, Ward DS, Bloor BC, Maze M. Effects of intravenous dexmedetomidine in humans. Sedation, ventilation and metabolic rate. *Anesthesiology* 1992; 77: 1125-33.

111- Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colino MD. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology* 2000; 93: 382-94.

112- Venn RM, Hell J, Grounds RM. Respiratory effects of dexmedetomidine in the surgical patient requiring intensive care. *Crit Care* 2000; 4:302-8.

113- Snapir A, Posti J, Kentala E, Koskenvuo J, Sundell J, Tuunanen H, et al. Effects of low and high plasma concentrations of dexmedetomidine on myocardial perfusion and cardiac function in healthy male subjects. *Anesthesiology* 2006; 105: 902-10.

114- Herr DL, Sum-Ping STJ, England M. ICU sedation after coronary artery bypass graft surgery: Dexmedetomidine-based versus propofol-based sedation regimens. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 2003;17: 576-84.

115- Lawrence CJ, Prinzen FW, DeLange S. The effect of dexmedetomidine on the balance of myocardial energy requirement and oxygen supply and demand. *Anesth Analg* 1996; 82: 544-550.

116- Grounds M. Dexmedetomidine: phase II results. Proceedings from the 19th international symposium on intensive care and emergency medicine; 1999 maT 16-19.

117- Venn RM, Bryant A, Hall GM, et al. Effect of dexmedetomidine on adrenocortical function, and the cardiovascular, endocrine and inflammatory responses in postoperative patients needing sedation in the intensive care unit. *Br J Anaesth* 2001; 86: 650-656.

118- Maze M, Scarfini C, Cavaliere F. New agents for sedation in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 2001; 17: 881-897.

119- Martin E, Ramsay G, Mantz H, et al. The role of the α_2 -adrenoceptor agonist dexmedetomidine in post-surgical sedation in the ICU. *J Intensive Care Med* 2003; 18: 29-41.

- 120- Ramsay M, Savege TM, Simpson ER, Goodwin R. Controlled sedation with alphaxalone-alphadolone. *BMJ* 1974;2: 656-659.
- 121- Mondello E, Siliotti R, Noto G, Cuzzocrea E, Scollo G, Trimarchi G, Venuti FS. Bispectral index in ICU: correlation with Ramsay score on assessment of sedation level. *J Clin Monit* 2002; 17: 271-277.
- 122- Kearse LA, Rosow C, Zaslavsky A. Bispectral Analysis of the Electroencephalogram Predicts Conscious Processing of Information During Propofol Sedation and Hypnosis. *Anesthesiology* 1998; 88: 25- 34.
- 123- Glass PS, Bloom M, Kearse L, Rosow C, Sebel P, Manberg P. Bispectral analysis measures sedation and memory effects of propofol, midazolam, isofurane and alfentanil in healthy volunteers. *Anesthesiology* 1997; 86: 836-847.
- 124- Sebel PS, Lang E, Rampil IJ, White PF, Cork R, Jopling M, Smith NT, Glass PS, Manberg PA. Multicenter study of bispectral electroencephalogram analysis for monitoring anesthetic effect. *Anesth Analg* 1997; 84: 891-899.
- 125- BIS Clinical Reference Manual. Newton Mass: Aspect Medical Systems; 1998.
- 126- Akyol R, Katarakt cerrahisinde bilinçli sedasyon için uygulanan midazolam ve deksmedetomidinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi; Şanlıurfa 2006.
- 127- Tsai SJ, Wang YC, Hong CJ. Allelic variants of the α_{1A} adrenoceptor and the promoter region of the α_{2A} adrenoceptor and temperament factors. *American Journal of Medical Genetics* 2001; 105: 96-98.

128- Park L, Nigg JT, Waldman ID, Nummy KA, Huang-Pollock C, Rappley M, Friderici KH. Association and linkage of α -2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHA. *Molecular Psychiatry* 2005; 10: 572-80.

129- Comings DE, Gonzalez NS, Cheng Li SC, MacMurray J. A line item approach to the identification of genes involved in polygenic behavioral disorders: the adrenergic alpha2A(ADRA2A) gene. *Am J Med Genet* 2003; 118B: 110-114.

130- Bolonna AA, Arranz MJ, Munro J, Osbourne S, Peteouni M, Martinez M, Kerwin RW. No influence of adrenergic receptor polymorphisms on schizophrenia and antipsychotic response. *Neurosci Lett* 2000; 280: 65-68.

131- Tsai SJ, Wang Y, Younger Y, Lin C, Yang K, Hong CJ. Association analysis of polymorphism in the promoter region of the alpha2A-adrenoceptor gene with schizophrenia and clozapine response. *Schizophr Res* 2001; 49: 53-58.

132- Clark DA, Mata I, Kerwin RW, Munro J, Arranz MJ. No association between ADRA2A polymorphisms and schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics* 2007; 144B: 341-343.

133- Sequeira A, Mamdani F, Lalovic A, Anguelova M, Lesage A, Seguin M, et al. Alpha 2A adrenergic receptor gene and suicide. *Psychiatry Research* 2004; 125: 87-93.

134- Fukutake M, Hishimoto A, Nishiguchi N, Nushida H, Ueno Y, Shirakawa O, Maeda K. Association of alpha (2A)-adrenergic receptor

gene polymorphism with susceptibility to suicide in Japanese females. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 1428-33.

135- Ohara K, Suzuki Y, Ochiai M, Terada H, Ohara K. Polymorphism in the promoter region of the alpha _{2A}-adrenergic receptor gene and panic disorders. *Psychiatry Research* 2000; 93: 79-82.

136- Tan CM, Wilson MH, MacMillan LB, Kobilka BK, Limbird LE. Heterozygous α_{2A} -adrenergic receptor mice unveil unique therapeutic benefits of partial agonists. *PNAS* 2002; 99: 12471-6.

137- Matsunaga T, Yasuda K, Adachi T, Gu N, Yamamura T, Moritani T. Et al. Alpha-adrenoceptor gene variants and autonomic nervous system function in a young healthy Japanese population. *J Hum Genet* 2007; 52: 28-37.

138- Fritschka E, Kribben A, Haller H, et al. Familial aggregation of altered adrenoceptor density and free intracellular calcium in patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 10: S122-S125.

139- Michel MC, Galal O, Stoermer J, Bock KD, Brodde OE. α - and β -adrenoceptors in hypertension. II. Platelet α_2 - and lymphocyte β_2 adrenoceptors in children of parents with essential hypertension. A model for the pathogenesis of the genetically determined hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13: 432-439.

140- van Hooft IMS, Grobbee DE, Schiffrers P, Boomsma F, Hofman A. Raised α_2 -receptor with normal β_2 -receptor density in youngestters at risk for hypertension. The Dutch hypertension and offspring study. *Ric Sci Educ Perm* 1989; 76(Suppl): 363.

141- Fagerholm V, Grönroos T, Marjamäki P, Viljanen T, Scheinin M, Haaparanta M. Altered glucose homeostasis in α_2A -adrenoceptor knockout mice. *Eur J Pharmacol* 2004; 505: 243-52.

142- Kurnik D, Muszkat M, Sofowora GG, Friedman EA, Dupont WD, Scheinin M, et al. Ethnic and genetic determinants of cardiovascular response to the selective α_2A -adrenoceptor agonist dexmedetomidine. *Hypertension* 2008; 51: 406-411.

143- Neumeister A, Charney DS, Belfer I, Geraci M, Holmes C, Sharabi Y, et al. Sympathoneural and adrenomedullary functional effects of α_2C -adrenoreceptor gene polymorphism in healthy humans. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15: 143-149.

144- Nümberger J, Dammer S, Mitchell A, Siffert W, Wenzel RR, Gossel M, et al. Effect of C825T polymorphism of the G protein β_3 subunit on the systolic blood pressure-lowering effect of clonidine in young, healthy male subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74: 53-60.

145- Kalaria RN, Andorn AC, Tabaton M, Whitehouse PJ, Harik SI, Unnerstall JR. Adrenergic receptors in aging and Alzheimer's disease: increased β_2 -receptors in prefrontal cortex and hippocampus. *J Neurochem* 1989; 53: 1772-81.

146- Xu C, Schackar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL, et al. Linkage study of the α_2A -adrenergic receptor in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet* 2001; 105: 159-62.

147- Roman T, Polanczyk GV, Zeni C, Genro JP, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence of the involvement of α_2A -adrenergic receptor gene

(ADRA2A) in inattentive dimensional scores of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Molecular Psychiatry* 2006; 11: 8-10.

X. EKLER

Çalışmanın yapılabilmesi için “T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Yerel Etik Kurulu Onayı” ve “T.C. Sağlık Bakanlığı, İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü Merkez Etik Kurul Onayı” alınmıştır.

XI. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Seyhan

Soyadı: YAĞAR

Doğum yeri ve tarihi: 22.07.1970

Eğitimi:

1996-2001; Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anestezi uzmanlık eğitimi.

1987-1993; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp doktorluğu.

1981-1987; Ankara Gazi Çiftliği Lisesi; ortaokul ve lise eğitimi.

Yabancı Dil: İngilizce KPDS- C düzeyi

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

- Ankara Tabipler Odası,
- Türk Tabipler Birliği,
- Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Uzmanlar Derneği.

Bilimsel Etkinlikler- Yayınlar:

1-Durak P, Hasman H, **Yağar S**, Erdemli Ö, Ebil S. Ondansetron preoperatif anksiyetede etkinmi? . Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi TARK'97-Bursa, Türkiye. Poster sunumu. 24-28 Ekim 1997.

2-**Yağar S**, Çetintaş Y, Ünver S, Erdemli Ö, Ebil S. The effect of sevoflurane on myocardial metabolism. European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists-EACTA'98-Bergen, Norway. Poster presentation. 17-20 June 1998.

3- **Yağar S**, Erdemli Ö, Durak P, Özsavran G, Ebil S. Transcranial doppler during selective perfusion. 10th International Intensive Care Symposium, İstanbul. Poster presentation. 14-17 May 1998.

4- **Yağar S**, Bahadır G, Erdemli Ö, Koruk S, Ünver S, Ebil S. Koroner arter by-pass greft cerrahisinde rokuronyum bromürün hemodinamik etkilerinin pankuronyum ile karşılaştırılması. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi- TARK'99-Mersin, Türkiye. Sözlü sunum. 27-31 Ekim 1999.

5- Bahadır G, Soyal Ö, Karadeniz Ü, **Yağar S**, İyican D, Uzun F, Demirci A, Erdemli Ö, DemirbağAE. Kardiyoversiyon uygulanan hastalarda sedasyon. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi - TARK' 2000-Kuşadası, Türkiye. Poster sunumu. 25-29 Ekim 2000.

6- **Yağar S**, Sarıkaya T, Yılmaz T, Ulus T, Erdemli Ö. Açık kalp cerrahisi sonrası hasta kontrollanaljezi. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi TARK' 2000-Kuşadası, Türkiye. Poster sunumu. 25-29 Ekim 2000.

7-**Yağar S**, Kultufan S, Balkız Ö, Muslu B,Erdemli Ö. Kardiyak anestezide yeni yaklaşım. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi- TARK' 2000-Kuşadası, Türkiye. Poster sunumu. 25-29 Ekim 2000.

8-Ayoğlu H, **Yağar S**, Yamak B, Ünver S, Yılmaz S, Erdemli Ö. Otoimmün hemolitik anemili hastada açık kalp cerrahisi. Türk Anesteziyoloji ve

Reanimasyon Kongresi- TARK' 2000-Kuşadası, Türkiye. Vaka sunumu. 25-29 Ekim 2000.

9-Şenyurt J, **Yağar S**, Öztürk D. Guillain - Barre sendromlu hastada genel anestezi sonrası uzamış mekanik ventilasyon ihtiyacı. TCDD Hastaneleri Tıp Bülteni, 2001 (2): 95-96.

10-**Yağar S**, Sarıkaya T, Ulus T, Erdemli Ö. Kalp cerrahisi sonrası hasta kontrollü analjezi uygulaması:Tramadol. TCDD Hastaneleri Tıp Bülteni, 2002 (2): 62-67.

11-Turan S, Öztürk D, Yıldız S, **Yağar S**, Demir A, Karadeniz Ü, Durak P, Erdemli Ö. Postoperatif ağrının kontrolünde remifentanil kullanımı. İnsizyon, 2002, 5(4).

12- Soner Yavaş, **Seyhan Yağar**, Levent Mavioğlu, Erdem Çetin, Hakkı Zafer İşcan, A Tulga Ulus, C Levent Birincioğlu. Tracheostomy: How and whwn should be done in cardiovascular surgery ICU.J Cardiac Surgery 2008; 23:1-8. (Basım için bekliyor)

13- Sema KULTUFAN TURAN, Bahar AYDINLI, İhsan AYIK, **Seyhan YAĞAR**, Dilek KAZANCI, Ümit KARADENİZ , Ayşegül ÖZGÖK, Özcan ERDEMLİ. Açık Kalp Cerrahisinde Tromboelastografinin Transfüzyon Kararı Üzerine Etkisi. GKD Anest Yoğ Bak Dern Derg 2006;12:154-159.

14- B. Karahalil, **S. Yağar**, G. Bahadır, P. Durak and S. Şardaş. Diazepam and propofol used as anesthetics during open-heart surgery do not cause chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. [Mutat Res.](#) 2005 ;581:181-6.

15- Karahail B, Yağar S, Özin Y. Release of alpha-glutathione S-transferase (alpha GST) and hepatocellular damage induced by *Helicobacter pylori* and eradication treatment. *Curr Drug Saf* 2007; 1: 43-6.