

# TİP-A AORTİK DİSSEKSİYONLU HASTALARDA VASKÜLER DÜZ KAS HÜCRELERİNDEKİ APOPTOZU DÜZENLEYİCİ PROTEİNLERİN ROLÜ

## AORTIC VASCULAR SMOOTH MUCLE CELL APOPTOSIS IN PATIENTS WITH TYPE-A AORTIC DISSECTION

Dr.Ahmet Rüçhan AKAR\*, Dr.Kamil Can AKÇALI\*\*, Dr.Serkan DURDU\*\*\*, Dr.Iraz T. AYDIN\*\*, Dr.Filiz ÇVRİL\*\*, Dr.Refik TAfiÖZ\*, Dr.Bülent KAYA\*, Dr.Ümit ÖZYURDA\*

\*Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, \*\*Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara, \*\*\*Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye

**XII. Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresinde sunulmuş ve "Genç Araştırmacı 2.'lik Ödülünü" almaya hak kazanmıştır.**

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, tip-A aort disseksiyonlu hastalarda (TipA-AD) aort vasküler düz kas hücrelerinde (VDKH) apoptoz varlığı ve apoptozu düzenleyici proteinlerin araştırılmasıdır.

**Yöntem:** Kasım/2002 ile Ocak/2005 tarihleri arasında elektif olarak aort TipA-AD nedeniyle cerrahi onarım uygulanan 10 hastadan (yaft53.3±13.1, 7E/3K, disseksiyon süresi:18.1±16.8 gün) ve kontrol grubu olarak ise koroner arter bypass cerrahisi (KABG) uygulanan 10 hastadan (yaft64.3±6.6, 7E/3K) tam kat aort duvar örnekleri alınmıştır. Operasyon sırasında alınan tüm doku örneklerinde, VDKH'lerinde apoptozunun varlığı in situ DNA fragman ifaetlemesi (TUNEL) tekniği ile incelenmiştir. Apoptozu regüle edici proteinlerin (Bak, Bax, Bcl-2 ve Bcl-XL) bu dokularda ifadelerinin araştırılması ise immunohistokimya yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** Tüm TipA-AD hastaların aort segmentlerinin VDKH'lerinde apoptozun varlığı TUNEL yöntemi ile gösterilmiştir. Koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastalardan alınan doku örnekleri ile TipA-AD doku örnekleri karşılaştırıldığında, TipA-AD hastaların VDKH'lerinde apoptozu artmış bir protein olan Bak proteini ifadesi daha yoğun olarak gözlenirken, koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastaların aort örneklerinde ise apoptoz önleyici bir protein olan Bcl-2 ifadesi daha yoğun olarak saptanmıştır.

**Sonuçlar:** Tip-A aorta disseksiyon hastalarının damar düz kas hücrelerinde Bak proteinin artmış olması bu hücreleri hacim yüklenmesine bağlı olarak ortaya çıkabilecek apoptozu daha duyarlı hale getirdiğini düşündürdüğünden, bu hastalarda Bcl-2 gen ailesi üyesi proteinlerinin kontrolünün terapötik ve prognostik kullanım potansiyelleri olabilir. (Damar Cer Der 2005;14(2): 25-30).

**Anahtar Kelimeler:** apoptozis, vasküler düz kas hücreleri, aort disseksiyonu

### Abstract

**Background:** The purpose of this study is to examine the onset of apoptosis and its regulatory proteins in aortic vascular smooth muscle cells (VSMC) in patients with type-A aortic dissection (TypeA-AD).

**Methods:** Between November/2002 and January/2005, full-thickness aortic wall specimens were obtained from 10 patients undergoing elective surgical repair of TypeA-AD (age:53.3±13.1, 7M/3F, duration of dissection: 18.1\_16.8 days) and 10 patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG) used as a control preparations (mean age: 64.3±6.6, 7M/3F). All tissue samples collected at the time of operation were submitted to analysis of VSMC apoptosis by using in situ end-labelling of DNA-fragments (TUNEL). Furthermore the expression of Bak, Bax, Bcl-2, and Bcl- XL proteins which are responsible from the regulation of apoptosis were also investigated by using immunohistochemical staining.

**Results:** Segments from TypeA-AD patients exhibited the onset of apoptosis which were identified by specific in situ end-labelling of DNA-fragments (TUNEL). Proapoptotic Bak protein expression was significantly increased in type A-AD patients when compared to that of aortic segments from the patients undergoing CABG whereas antiapoptotic Bcl-2 protein expression was predominantly observed in the CABG group.

**Conclusions:** Increased Bak protein expression observed in patients with Type-A AD may suggest that these VSMCs are more vulnerable to apoptosis due to the proapoptotic effects of circumferential overload. Therefore, the regulation of Bcl-2 gene family member proteins may have a therapeutic and prognostic role in TypeA-AD. (Turkish J Vasc Surg 2005;14(2): 25-30).

**Keywords:** apoptosis, vascular smooth muscle cell, aortic dissection

### Dr.Ahmet Rüçhan AKAR

Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı,  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara  
E-mail: rakar@medicine.ankara.edu.tr  
Tel: 90 5055279680  
Fax: 90 312 3625639

## GİRİŞ

Apoptoz, Kerr ve arkadaşları'nın belirttiği gibi, ayrıntılı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri ile aktif bir hücre ölümüdür<sup>1</sup>. Apoptoz yolu ile ölen hücrelerde, çekirdekte kromatin yoğunlaşması, hücre zarlarında balonlaşma oluşması ve DNA fragmentasyonu göstermektedirler. Ölmüş hücre parçaları'nı içeren apoptotik cisimlerin oluşumu ve bunların inflamasyona neden olmadan fagositoz ile bulundukları yerden uzaklaştırılmaları apoptotik hücrelerin morfolojik özelliklerindendir<sup>2</sup>. Apoptozun, embriyonik gelişim, endokrin bağımlı doku atrofisi ve normal yetkin dokuların homeostazı sırasında çok önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Özellikle hücre içi ve dışı sinyallerle tetiklenen apoptoz yollarında meydana gelen bozuklukların, kanser, nörodejenerasyon, otoimmünite, kalp hastalıkları ve viral enfeksiyonlar gibi çok çeşitli insan hastalıklarının patogeneğinde rol oynadığı kabul edilmektedir<sup>3</sup>. Bunun sonucu olarak, apoptozu düzenleyen genlerin, günümüzde tedavis ve tedavi yaklaşımlarının hedefleri olduğu açıktır. Programlı hücre ölümü, içlerinde bcl-2 gen ailesinin de bulunduğu birçok farklı mekanizma ile regüle edilmektedir. Bcl-2 gen ailesinde hem apoptozu artıran hem de azaltan genler bulunmaktadır. Apoptozu artıranların önleyicilere olan oranının hücrelerin kaderini saptamada önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. Bu proteinler, mitokondriadan sitokrom c ve apoptoz oluşturan faktörlerin salınımını ve bunun sonucu olarak caspase aktivasyonunu regüle etmektedirler. Apoptozun ve regüle edici Bcl-2 genlerinin çeşitli kalp ve damar hastalıklarında rolü yaygın olarak araştırılmış olması na rağmen tip-A aort disseksiyonlu (AD) hastaların vasküler düz kas hücrelerinde (VDKH) bildirilmiş kadarıyla incelenmemiştir. Tip-A AD hastalarında apoptozun ve bcl-2 gen ailesinin rolünü aydınlatmak çalışmanın amacı olmaktadır. Bu amaçla tip-A AD hastalarından alınan VDKH'lerinde apoptozun varlığı ve farklı Bcl-2 protein ailesi üyelerinin ifadeleri araştırılmış ve koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastalardan alınan dokularla karşılaştırılmıştır.

## 2. Hastalar ve Yöntem

### 2.1. Hasta kohortu

Kasım 2002 ile Ocak 2005 tarihleri arasında elektif cerrahi onarımları yapılan 10 Tip-A AD (7 erkek ve 3 kadın hasta, ortalama yaşı  $53.3 \pm 13.1$ , disseksiyon süresi:  $18.1 \pm 16.8$  gün) hastasından alınan tam kat aort duvar örnekleri ile KABG operasyonu yapılan hastaların çıkan aort dokuları (10 örnek, 7 erkek ve 3 kadın hasta, ortalama yaşı  $64.3 \pm 6.6$ ) kontrol örnekleri olarak karşılaştırıldı. Kontrol aort örneklerinde operasyon sırasında aort anevrizması veya disseksiyona ilişkin bir kanıta rastlanmadı. Çalışma süresince, (1) "Papey yenilenmiş kriterlerine dayalı" Marfan sendromu tefhisi<sup>4</sup> (2) her formda aortit tanısı olan hastalar çalışmaya dâhil bırakılmıştır.

### 2.2. İmmunohistokimya

Farklı Bcl-2 ailesi proteinlerinin varlığı %10 formalin ile fikse edildikten sonra parafine gömülen dokulardan alınan 5 µm büyüklüğünde kesitlerde incelenmiştir. Bu kesitler %0.3 hidrojen peroksitli metanol içinde 30 dakika inkübe edildikten sonra içerisinde % 1.5 normal keçi serumu, %2 BSA ve % 0.1 triton-X bulunan PBS ile oda sıcaklığında bir saat tutulmuştur. Bax, Bcl-XL, Bcl-2 ve Bak primer antikoları (Santa Cruz Biyoteknoloji firması, Santa Cruz, ABD) PBS içerisinde 3 µg/ml konsantrasyonunda doku kesitlerine uygulanmış ve gece boyu 4°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası üç kez PBS ile yıkanan doku kesitleri, HRP bağlanmış sekonder antikolar ile (Dako, Danimarka) oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildikten sonra DAB substurunda 2 dakika tutulmuştur. Aort duvar morfolojisi ve kronik inflamasyonu tanımlamak için hematoksilin ve eosin (H&E) boyama kullanılmıştır. Kesitler Zeiss-Aksioskop mikroskopta 10X ve 40X büyütmede incelenmiştir.

İmmün reaktiviteyi analiz etmek için kesitlerdeki immün pozitif hücreler semi-kantitatif olarak değerlendirildi<sup>5</sup>. Bu değerlendirmede 0, negatif; 1, hafif; 2, orta; 3, kuvvetli olarak kabul edilmiştir.

### 2.3. *In situ* DNA fragmentasyon analizi (TUNEL)

In situ DNA fragmentasyonu, TdT-(terminal deoxynucleotidyl transferase) aracılı floresan-dUTP ifaetleme kiti (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) kullanarak araştırılmıştır. Koroner arter bypass cerrahisi uygulanan ve aorta disseksiyonlu hastalardan alınan parafin kesitler yakanp geçirgen bir solüsyon ile (% 0.1 Triton X-100, % 0.1 sodyum sitrat) buzda iki dakika inkübe edildikten sonra, her örneğe, 50µl TUNEL reaksiyon karışımı uygulanmış ve 37 °C’de, karanlık ve nemlendirilmiş ortamda bir saat inkübe edilmiştir. Daha sonra slaytlar direkt olarak floresan mikroskopisinde incelenmiştir. Negatif kontrol olarak alınan doku kesitleri terminal deoxynucleotidyl transferase enzimi yokluğunda inkübe edilirken pozitif kontrol olarak DNase I enzimi (1000 U/ml 50 mM Tris-HCL, pH 7.5, 1 mg/ml BSA) ile 20°C’de, 10 dakika inkübe edilen ve böylece DNA kırıklar oluşturan kesitler ile TUNEL reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

### 2.4 İstatistiksel Analiz

Analizler, SPSS system 11.5 yazılımı ile gerçekleştirildi. Veriler, gerektiğinde ortalama±SD (standart deviasyon) olarak gösterildi. Karşılaştırmalar, Tip A-AD ile kontrol grubu arasında, standart Student’s t testi kullanılarak yapıldı. Tüm testlerde, farklılık için, anlamlı düzey, 0.05’ten küçük p değeri idi. Gruplar arasında oranların farklılıkları, Ki-kare veya Fisher’s Exact testi kullanılarak, uygun olduğu yerlerde, karşılaştırıldı.

## 3. Bulgular

Çalışma grubundaki hastaların 7’sinde (%70) hipertansif etyoloji, 3 (%30) hastada ise aterosklerotik etyoloji ön planda idi; bu grupta Marfan sendromu, biküspid aort kapak ve ciddi aort darlığı mevcut değildi. Tip A-AD hastalarının maksimum aort çapı, bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans görüntüleme tekniği ile 42 mm ve 65 mm aralığında ölçüldü (53.7±9.6 mm); kontrol hastalarında maksimum aort çapı, ekokardiografi tekniğiyle, 23 ile 32 mm (27±2.8 mm) aralığında idi (Tablo 1). Çalışma grubundaki 3 hastaya suprakoroner

**Tablo 1:** Hasta özellikleri ve Tip-A aort disseksiyonu ve normal aort olarak tanımlanan hasta gruplarındaki çikan aort mediyal vasküler düz kas hücrelerinde Bak ve Bcl-2 ekspresyonu karşılaştırması.

| Örnek                         | Yaşı, y   | Cins K/E | Hipertansiyon<br>Evet/Hayır | Aort Kökü<br>Çapı, mm | Disseksiyon<br>Süresi, gün | Bak<br>ekspresyonu | Bcl-2<br>ekspresyonu |
|-------------------------------|-----------|----------|-----------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------|----------------------|
| <i>Aort Disseksiyon grubu</i> |           |          |                             |                       |                            |                    |                      |
| 1AD                           | 39        | E        | E                           | 65                    | 4                          | 2                  | 0                    |
| 2AD                           | 58        | E        | E                           | 55                    | 18                         | 0.5                | 0.5                  |
| 3AD                           | 61        | E        | H                           | 42                    | 5                          | 2                  | 3                    |
| 4AD                           | 53        | K        | H                           | 53                    | 21                         | 1.5                | 0.5                  |
| 5AD                           | 83        | E        | E                           | 36                    | 11                         | 1                  | 1                    |
| 6AD                           | 35        | E        | H                           | 60                    | 60                         | 1.5                | 0                    |
| 7AD                           | 55        | K        | E                           | 59                    | 19                         | 1.5                | 0.5                  |
| 8AD                           | 52        | E        | E                           | 45                    | 2                          | 2                  | 2                    |
| 9AD                           | 48        | K        | E                           | 62                    | 27                         | 0                  | 1.5                  |
| 10AD                          | 49        | E        | E                           | 60                    | 14                         | 2                  | 0.5                  |
| Ortalama                      | 53.3±13.1 | 3K/7E    | %70                         | 53.7±9.6              | 18.1±16.8                  | 1.4±0.7            | 0.95±0.96            |
| <i>Kontrol grubu</i>          |           |          |                             |                       |                            |                    |                      |
| 1Kontrol                      | 56        | K        | H                           | 24                    | *                          | 0                  | 1                    |
| 2Kontrol                      | 70        | E        | E                           | 27                    | *                          | 0                  | 1                    |
| 3Kontrol                      | 53        | K        | E                           | 26                    | *                          | 0                  | 1.5                  |
| 4Kontrol                      | 71        | E        | H                           | 23                    | *                          | 1                  | 3                    |
| 5Kontrol                      | 63        | E        | H                           | 27                    | *                          | 0                  | 1.5                  |
| 6Kontrol                      | 65        | E        | H                           | 32                    | *                          | 0.5                | 1                    |
| 7Kontrol                      | 60        | K        | E                           | 28                    | *                          | 0                  | 1.5                  |
| 8Kontrol                      | 66        | E        | E                           | 26                    | *                          | 0                  | 1                    |
| 9Kontrol                      | 74        | E        | H                           | 31                    | *                          | 0.5                | 1.5                  |
| 10Kontrol                     | 65        | E        | E                           | 26                    | *                          | 0                  | 1                    |
| Ortalama                      | 64.3±6.6  | 3K/7E    | %50                         | 27±2.8                | *                          | 0.16±0.35 §        | 1.40±0.61 §          |

AD= Aort disseksiyonlu hasta,

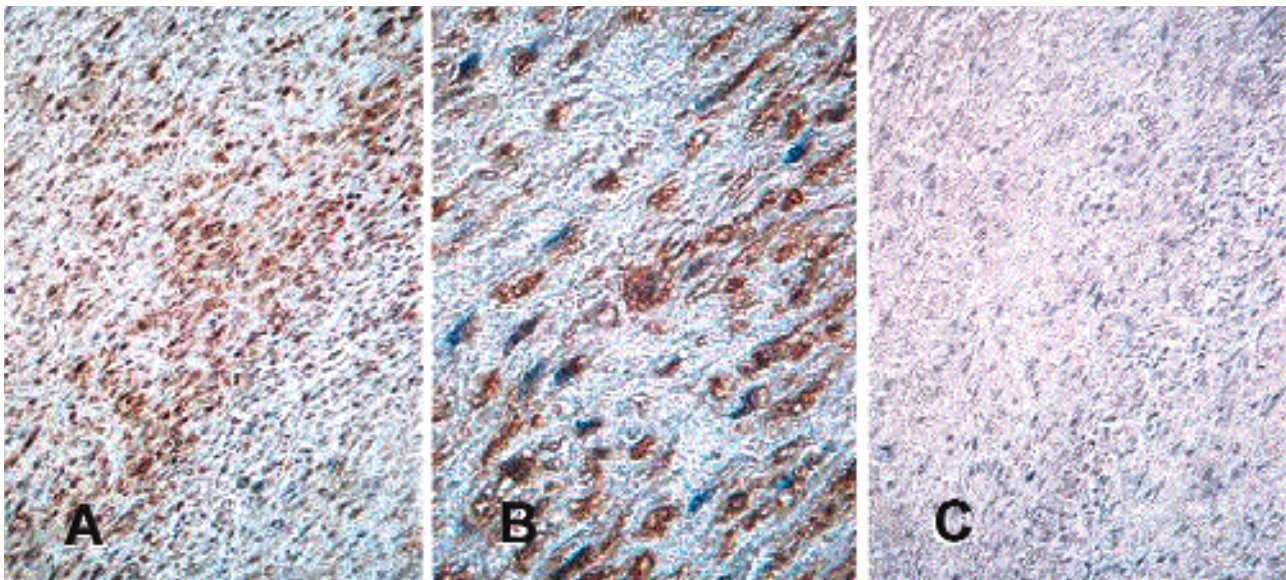
\* Aort Disseksiyonu mevcut değil, § gruplar arasında karşılaştırmada p<0.05

greft interpozisyonu ve hemiarkus replasman›, 4 hastaya Bentall operasyonu, 3 hastaya da Bentall operasyonu ve hemiarkus replasman› uygulanm›ft›r. Kontrol grubundaki tüm hastalara KABG operasyonu (ortalama greft say›s›:  $3.4 \pm 1.07$ ) gerçekleştirilmiştir.

Her iki grupta da, medyadaki çoğu hücre tipi VDKH idi. Her iki grupta aort mediyal tabakası›nın H&E boyama tekniği ile değerlendirmesinde inflamatuvar hücre kan›t› mevcut değildi. Kontrol grubunda yer alan tüm aort doku örneklerinde intimal kal›fıma haricinde aterosklerozun sonucu olabilecek fibrosis, kalsifikasyon bulguları saptanmad›. Kontrol grubunda yer alması planlanan ancak fibrosis ve kalsifikasyonun saptand›ę› iki doku örneği, kontrol grubunun homojen olması amacıyla çalışma dış› bırak›lm›ft›r.

### 3.1 Bak protein ifadesi

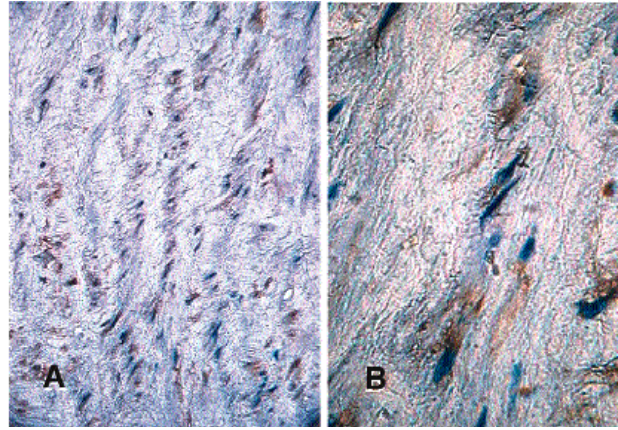
Apoptozu art›ran Bcl-2 protein ailesi üyelerinden olan Bak proteininin yoğun olarak aorta disseksiyonlu hastalarda bulunduğu saptand›. Bu gruptaki hastalardan örnek flekil 1A’da gösterilmektedir. Aynı kesidin 40 büyütmesinde ise immün pozitifliğin sitoplazmik ve membranöz olduğu görülmektedir (flekil 1B). Aynı hastadan alınan diğer kesitlerden yapıları ve primer antikorun kullan›lmad›ę› negatif kontrol gruplarında ise herhangi bir pozitifliğin saptanmamas› (flekil 1C), Bak protein ifadesinin spesifikliğini ve herhangi bir deneysel sorun olmad›ę›n› göstermektedir.



**Şekil 1:** Aort Disseksiyon olgusunda Bak protein ifadesi  
A: 10X, B: 40X büyütme. C: primer antikorun kullan›lmad›ę› negatif kontrol.

### 3.2. Bcl-2 protein ifadesi

Apoptoz oluşumunu önleyici etkisi olan Bcl-2 protein ifadesinin ise AD hastalardan çok, koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastalardan elde edilen dokularda bulunduğu gözlemlendi. Bu gruptan alınan bir doku kesidi örneği flekil 2A’da gösterilmektedir. Aynı kesidin 40X büyütmesinde ise boyaman›n daha çok membranöz olduğu anlaşılmaktadır (flekil 2B).



**Şekil 2:** Non-anevrizmatik olguda Bcl-2 protein ifadesi  
A: 10X büyütme, B: 40X büyütme

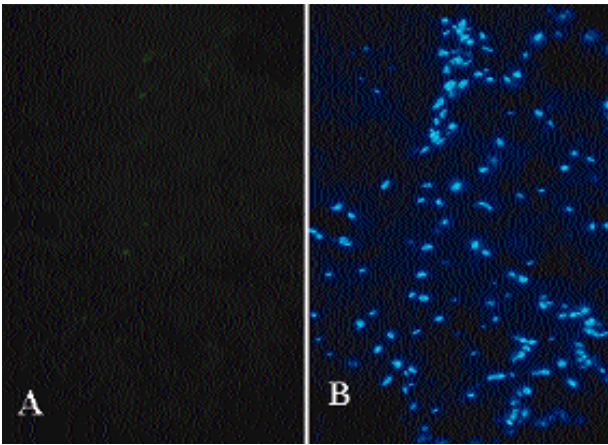
### 3.3. Bax ve Bcl-xL protein ifadesi

Apoptozu art›c› bir protein olan Bax ve azalt›c› bir protein olan Bcl-XL’in ifadesi her iki grupta da saptanmam›ft›r.

### 3.4. TUNEL

DNA kır›kları›n›n saptanması bir hücrenin apoptoza gittiğinin en önemli biyokimyasal kan›tı olduğundan, biz

de hem koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastalardan hem de aorta disseksiyonlu hastalardan alınan doku kesitlerinde DNA kırıklarının varlığını TUNEL yöntemi ile değerlendirdik. Yapılan çalışmalar AD'lu hastalardan alınan kesitlerde TUNEL reaksiyonunun pozitif olduğunu yani apoptoz varlığını göstermektedir (Şekil 3A). TUNEL pozitifliğinin sadece bir kısım hücrede olması ve hücrelerin çekirdeği ile aynı yerde görülmesi (Şekil 3B), elde edilen sonucun spesifikliğini göstermektedir.



**Şekil 3:** Aort disseksiyon olgusunda A: TUNEL reaksiyonu, B: aynı kesidin hücre çekirdeklerini görüntülemek için Hoechst boyaması, (Büyütme 10X)

#### 4. Tartışma

Bu çalışmada, aort disseksiyon olgularında, aort mediyal tabakasındaki VDKH'de apoptoz fenomeninin araştırılmasına odaklanılmıştır. Aort disseksiyonu, 17. yüzyılda Sennertus tarafından tanımlanmış olması rağmen, hastanın gelişimi ve progresyonunda gerçekleşen hücresel ve ultrastrüktürel değişikliklerin incelenmesi son yıllarda hız kazanmıştır. Aort disseksiyon patogenezinde intimal bir yırtıktan, tunika media tabakalarına kan akışı söz konusudur ancak aort duvarının hacim olarak yalnızca %5'ini oluşturmalarına rağmen tüm kollajen ve elastik yapıların üretiminden sorumlu VDKH'nin disseksiyon öncesi ve sonrasındaki akıbetleri literatürde iyi tanımlanmamıştır. Aort disseksiyon olgularında VDKH'de apoptozun tanımlandığı bu çalışmada, konuyla ilgili ilk insan dokümantasyonudur.

Aort disseksiyonu ile hipertansiyon, kistik mediyal dejenerasyon ve diğer konnektif doku hastalıkları arasındaki yakın birliktelik bilinmektedir. Örneğin aort disseksiyonlarında bildirilmiş hipertansiyon insidansı %75 dolaylarındadır<sup>6</sup>. Hipertansiyon ve damar ağında apoptoz gelişimi ilgili bazı çalışmalar mevcuttur. Intengan ve arkadaşları, hipertansiyonun ilerleyişinde ve VDKH'nin apoptozunda, reaktif oksijen türleri, nitrik oksit, anjiyotensin tip-2 reseptörleri ve endotelin sistemini sorumlu tutmuşlardır<sup>7</sup>. Sharifi ve arkadaşları ise yakın zaman önce spontan olarak hipertansiyon geliştirilmiş sıçanlarda<sup>8</sup>, Diep ve arkadaşları ise anjiyotensin infüze edilen sıçanlarda<sup>9</sup>, Bax/Bcl-2 oranları ve TUNEL yöntemini kullanarak VDKH'inde apoptozun varlığını göstermişlerdir.

Erdheim'in kistik mediyal dejenerasyonu, aort disseksiyonlarının etyolojisinde önemli bir yer tutar<sup>6</sup>. Kistik mediyal dejenerasyonlu olgularda elastik liflerde fragmentasyon, VDKH'nin kaybedilmesi, kollajen içeriğinde artışıyla birlikte fibrozis, amorf matris birikimi aort medyasının yapısal olarak güçsüzleşmesine yol açar. Mediyal tabakada VDKH'nin inflamasyon olmasıyla kaybı apoptotik patoloji ile hücre kaybı olduğunu düşündürmektedir. Nitekim Ihling ve arkadaşları, kistik mediyal dejenerasyon etyolojisi ve aort rüptürü nedeniyle kaybedilmiş 20 hastanın immunohistokimyasal incelemelerinde p53 akümüasyonu, Bax upregülasyonu ve sonuçta apoptoz varlığını göstermişlerdir<sup>10</sup>. Bondeman ve ark. Marfan sendromlu ve konjenital aort hastalarındaki aort dilatasyonu patogenezinde VDKH'de apoptozun rolünü bildirmişlerdir<sup>11</sup>. Diğer araştırmacılar tarafından da doğrulandığı gibi Marfan sendromlu hastaların aort VDKH'nde apoptoz artmıştır<sup>12</sup>. Benzeri çalışmada bikuspid aort kapak nedeniyle çıkan aort anevrizmal hastaların aort örneklerinde Schmid ve ark. tarafından tamamlanmış VDKH'nde apoptoz olması ile aort duvarındaki yağlılaşma ilişkilendirilmiştir<sup>13</sup>. Çalışmamızdaki sonuçlar, Nagashima ve ark.'nın 12 bulgular ile benzerlik göstermektedir ancak sunulan veriler literatürde kontrol gruplu tip-A AD serisinde apoptozun gösterildiği ilk çalışmadır.

**Çalışmanın sınırlamaları**

Bu çalışmanın major sınırlaması; kontrol grubu olmasına rağmen disseksiyon öncesi anevrizmal aort doku örneklerinin olmayışıdır. Bu çalışma apoptozun varlığını göstermekle beraber apoptoz fenomeninin disseksiyondan önce altta yatan etyolojik nedenlerle mi yoksa disseksiyon gelişiminden sonramı gelişiminin yanı sıra verememektedir. Ancak bu sınırlama literatür verileri ile karşılaştırılarak giderilmeye çalışılmıştır. Makalenin yazarları bu konunun deneysel modellerde araştırılması ve aort anevrizmal olgularda da aynı çalışmanın devam ettirilmesi gerektiğine inanmaktadırlar.

**Sonuç:** Apoptozu regüle eden önemli genler olan Bcl-2 gen ailesi içerisinde hem apoptozu artırıcı hemde azaltıcı etki gösteren genler bulunmaktadır. Apoptozu artıran genlerin, azaltıcı genlere oranının başka sistemlerde hücrenin geleceğinin saptanmasında önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Tip-A aort disseksiyonlu olgularda Bcl-2 gen ailesi üyelerinden apoptozu artırıcı Bak geni protein ifadesinin arttığını, buna karşılık AD olmayan kişilerden alınan aorta örneklerinde ise apoptozu azaltıcı Bcl-2 geni protein ifadesinin bulunduğunu göstermektedir. Tip-A AD hastalarının damar düz kas hücrelerinde Bak proteinin artmış olması bu hücreleri apoptoza daha duyarlı hale getirdiğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda AD'lu hastaların doku kesitlerinde TUNEL pozitifliğinin bulunması bu görüşümüzü doğrulamaktadır. Diğer sistemlerde bu proteinler arasındaki dengenin hücrenin yaşam ve ölüm arasındaki tercihini belirttiği bilindiğinden aort disseksiyonlu hastaların cerrahi tedaviden sağlayacağı faydaların saptanmasında ve prognoz açısından değerlendirilmede apoptoz ve onu kontrol edici proteinlerin önemli bir araç olabileceğini düşünmekteyiz. Aort hastalarının moleküler düzeyde daha iyi tanımlanması cerrahi tedavi yöntemlerine yeni alternatifler doğmasına neden olabilecektir.

**KAYNAKLAR**

1. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26:239-257.
2. Savill J, Dransfield I, Hogg N et al. Vitronectin receptor-mediated phagocytosis of cells undergoing apoptosis. Nature. 1990;343:170-173.
3. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science. 1995;267:1456-1462.
4. De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC et al. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. Am J Med Genet. 1996;62:417-426.
5. Akcali KC, Sahiner MA, Sahiner T. Role of Bcl-2 family of genes During Kindig. Epilepsia 2005; 46: 217-223.
6. Hirst AE, Johns VJ, Kime SW. Dissecting aneurysms of the aorta: A review of 505 cases. Medicine. 1958;37:217-279.
7. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. Hypertension. 2001;38:581-587.
8. Sharifi AM, Schiffrin EL. Apoptosis in vasculature of spontaneously hypertensive rats: effect of an angiotensin converting enzyme inhibitor and a calcium channel antagonist. Am J Hypertens. 1998;11:1108-1116.
9. Diep QN, Li JS, Schiffrin EL. In vivo study of AT(1) and AT(2) angiotensin receptors in apoptosis in rat blood vessels. Hypertension. 1999;34:617-624.
10. Ihling C, Szombathy T, Nampoothiri K et al. Cystic medial degeneration of the aorta is associated with p53 accumulation, Bax upregulation, apoptotic cell death, and cell proliferation. Heart. 1999;82:286-293.
11. Bonderman D, Gharehbaghi-Schnell E, Wollenek G et al. Mechanisms underlying aortic dilatation in congenital aortic valve malformation. Circulation. 1999;99:2138-2143.
12. Nagashima H, Sakomura Y, Aoka Y et al. Angiotensin II type 2 receptor mediates vascular smooth muscle cell apoptosis in cystic medial degeneration associated with Marfan's syndrome. Circulation. 2001;104:I282-I287.
13. Schmid FX, Bielenberg K, Schneider A et al. Ascending aortic aneurysm associated with bicuspid and tricuspid aortic valve: involvement and clinical relevance of smooth muscle cell apoptosis and expression of cell death-initiating proteins. Eur J Cardiothorac Surg. 2003;23:537-543.