

**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Yrd.Doç.Dr.Tammam SİPAHİ

**HİPERTANSİYONLU HASTALARDA ACE GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Metin BUDAK

EDİRNE-2006

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anabilim Dalı Biyofizik yüksek lisans programı çerçevesinde ve Yrd. Doç. Dr.Tammam SİPAHİ danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Metin BUDAK tarafından tez başlığı “**Hipertansiyonlu Hastalarda ACE Gen Polimorfizminin Araştırılması**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı/....../2006 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

İmza

Unvanı Adı Soyadı
JÜRİ BAŞKANI

Doç. Dr. Bülent S. CİĞALI
Anatomi Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Biyofizik Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR
Biyofizik Anabilim Dalı

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Tezimin bütün aŐamalarında bilgisini benden esirgemeyen sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Tammam Sipahi'ye, Biyofizik bölümünde çalışmaya başladığımdan beri bana her türlü destek veren çok sevgili sayın hocam Prof. Dr. Seralp Őener'e, hasta materyalini elde etmemi sağlayan Nefroloji A.D. başkanı Prof. Dr. Saniye Şen ve Yrd. Doç. Sedat Üstündağ'a, bilimsel yardımını hala benden esirgemeyen ve tezimde destek veren CerrahpaŐa Tıp Fak. Genetik A.D.'dan Doç. Dr. Nur Buyru'ya, tezimin deneylerinde kendi tezi gibi benimle çalışan ve her zaman yardımcı olan AraŐ. Gör. Arzu Ay'a teŐekkürü bir borç bilirim.

SIMGE VE KISALTMALAR

ACE	Angiotensin Converting Enzym
bç	Baz çifti
Cmhg	Santimetreciva
DD	Deletion / Deletion genotipi
Dkb	Diastolik Kan Basıncı
Dkb	Diastolik Kan Basıncı
DNA	Deoksinükleotidtrifosfat
EDTA	EtanolDiamninTetraAsetikAsit
Ht	Hipertansiyon
ID	Insertion / deletion genotip
II	Insertion / İnsertion genotip
Kb	Kilobaz
mM	MiliMolar
OD	Optik Dansite
PZR	Polimereaz Zincir Reaksiyon
Skb	Sistolik Kan Basıncı
U.V	Ultraviyole
v.k.i	Vücut kitle indeksi

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
Hipertansiyon Belirtileri	4
Sebebine Göre Hipertansiyon İki Guruba Ayrılır	5
Hipertansiyon Oluşmasındaki Faktörler	5
Değiştirilemez Faktörler	5
Değiştirilebilir Faktörler	5
Normal ve Yüksek Kan Basınçları	7
Hipertansiyonun Hedef Organları	8
Poligenik HT	8
Sendrom X (Raven Hastalığı)	10
Monogenik HT	10
Glukokortikoid Yanıtlı Aldosteronizm	10
Addusin Geni	11
Belirgin Mineralokortikoid Fazlalığı Sendromu (AME)	11
Liddle Sendromu	12
Kas Glikojen Sentaz Geni (GYS-1)	12
Angiotensin Dönüştürücü Enzim ve I/D Polimorfizmi	12
ACE I/D Polimorfizmi	13
GEREÇ VE YÖNTEM	15
GEREÇLER	15
KİMYASAL MALZEMELER	15
ÇALIŞMADA KULLANILAN CİHAZLAR	16
ÇÖZELTİLER	16
Agoroz Jel Elektroforezi Çözeltisi	16
DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler	17
YÖNTEMLER	17
DNA İZOLASYONU	17
Polimeraz Zincir Reaksiyonu	17
PZR Koşulları	19
Döngü	19
BULGULAR	20

TARTIŞMA	23
SONUÇLAR	25
ÖZET	27
SUMMARY	28
KAYNAKLAR	29
RESİMLEMELER LİSTESİ	33
ÖZGEÇMİŞ	34
EK	35

GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon (Yüksek tansiyon), tüm dünyada ciddi olarak insan ve toplum sağlığını tehdit eden, kalp krizi, felç ve böbrek yetmezliği gibi ölümcül sonuçlara yol açan, tehlikeli ve yaygın bir hastalıktır. Kan basıncı ile kalp damar hastalıkları arasında yakın ilişki vardır. Kan basıncı ne kadar yüksek ise kalp krizi, kalp yetmezliği, felç, göz ve böbrek hastalıkları gelişme riski de o kadar yüksektir (1).

Hipertansiyon çok büyük oranda (%95'in üzerinde) genetik faktörlerin de içinde olduğu insan yapısına ve yaşadığı çevre koşullarına ait birden fazla faktörün bir arada bulunmasıyla oluşur. Küçük bir kısmından ise (%3-5) böbrek, damar veya hormon hastalıkları sorumludur (1, 2).

Erişkin yaştaki hipertansiyonluların %90'ında sebep tam olarak anlaşılamaz. Bu tip hipertansiyona tıpta esansiyel veya primer hipertansiyon denir. Halk arasında “asabi tansiyon” da denilmektedir. Genellikle hayat boyu devam eden bir durumdur. Hipertansiyon oluşmasında başka bir hastalık veya sebep söz konusu ise buna sekonder hipertansiyon denir. Erişkinlerde %6-8 sıklıkta rastlanır (1, 3).

Esansiyel hipertansiyonun nasıl oluştuğunun mekanizmaları, iyi bir şekilde ortaya konmuştur. Bu tip hipertansiyonun gelişmesini kolaylaştıran bazı önemli faktörler vardır: Bunlar;

a) Kalıtım: Hipertansiyonun bazı ailelerde daha sık görüldüğü bilinmektedir. Anne, baba veya yakın kan bağı olan akrabalarda hipertansiyon varsa, diğer aile üyelerinde de oluşma ihtimali fazladır. Aile fertleri arasında erken yaşta kalp krizi veya felç geçirenler bulunuyorsa, diğer aile üyelerinin belirli aralıklarla tansiyonlarını ölçtürmeleri erken tanı için önemlidir. Bu tip kalıtsal (genetik) özelliklerin hipertansiyona katkısı %30-60 gibi önemli bir orandır (4)

b) Cinsiyet: Erkeklerde kadınlara göre daha fazla sıklıkta hipertansiyon görülür. Menopoza girildikten sonra kadınlarda da görülme sıklığı artar (1, 4).

c) Yaş: Hipertansiyon genellikle 35 yaşın üzerinde ortaya çıkar ve yaş ilerledikçe daha sık görülür. 15-20 yaş civarındaki hipertansiyon vakalarının da %20-25'i esansiyel tiptir (2, 5, 6).

d) Irk: Siyah ırkta beyazlara göre daha sık hipertansiyona rastlanır ve daha şiddetli seyreder (7).

e) Şişmanlık: Yapılan taramalarda ideal ağırlıklarının %20'sinden fazla şişman olan kimselerde, hipertansiyon gelişme şansının yüksek olduğu anlaşılmıştır. Ancak şişmanlık her zaman hipertansiyona neden olmamaktadır (7, 8).

f) Yemeklerde fazla tuz kullanılması: Yemeklik tuzda sodyum ve klor bulunur. Sodyum sağlık için gereklidir ve yeterli miktarda yenirse vücuttaki sıvı dengesini düzenler. Hipertansiyonlu kişilerin bazıları aşırı tuzlu yiyen kişilerdir. Fazla alınan tuz böbreklerden atılır ama bazı kişilerde bu mekanizma az çalıştığından, tuzla birlikte vücutta su da tutularak hipertansiyon gelişebilir. Hipertansiyonlu hastaların büyük kısmında tuz alımı azaltılırsa tedavide yararlı olur (1, 7)

g) Alkol: Fazla miktarda alkol içilmesi kan basıncını yükseltebilir (7).

h) Sigara: Fazla sigara içilmesi de kan basıncını etkilemektedir (9).

i) Sedanter (hareketsiz) yaşam şekli: Bu şekilde yaşayanlar genellikle şişmandırlar ve bu da hipertansiyona zemin hazırlar. Hareketli yaşam, düzenli yürüyüşler hem kilo alınmasını önler, hem de sıkıntı ve endişe gibi hislerin giderilmesini sağlar (10).

j) Stres: İşinde veya evinde sıkıntı ve gerginlik içinde yaşayanlarda kan basıncı geçici olarak yükselebilir. Bu stresler şiddetli ve uzun süreli olursa devamlı hipertansiyona yol açabilir (9, 10).

Bu çalışmanın amacı; Trakya bölgesinde yaşayan ve Tıp Fakültesi Nefroloji A.D.'na başvuran hipertansiyonlu hastalarda kalıtımın hipertansiyonla olan ilişkisini araştırmak ve kalıtımın hipertansiyona olan katkısını; kan basıncını ayarlamakla görevli renin - angiotensin - aldosteron sisteminin en önemli üyelerinden biri olan angiotensin dönüştürücü enzim (ACE)'yi kodlayan bölgenin ekleme İnsersiyon (I) veya eksilme Delesyon (D) polimorfizimlerini araştırmak ve bu polimorfizimlerin hipertansiyonla olan ilişkisini kontrol gurubu ile hasta gurubunu karşılaştırarak saptamaktır.

Hipertansiyonlu hastalardaki ACE I/D polimorfiziminin rolüne açıklık kazandırmak için hasta ve kontrol gruplarından 2'şer mililitre (ml) kan örneği alındı ve ACE I / D polimorfizimini incelemek üzere kanlardan DNA'lar izole edildi. DNA'lar izole edildikten

sonra özgün primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle istenilen bölgeler çoğaltıldı. PCR ürünleri agaroz jelde yürütüldü ve etidyum bromid ile boyanarak ultraviyole ışık altında görüntülendi.

Bu çalışmanın hipertansiyon için erken teşhis ve tanı konmasında yardımcı bilgiler vermesi beklenmektedir.

GENEL BİLGİLER

HİPERTANSİYON (YÜKSEK TANSİYON)

Tansiyon damarlardaki kan basıncı anlamına gelir ve genelde kan basıncını ölçerken iki parametreden söz edilir. Birincisi sistolik kan basıncı halk arasında büyük tansiyon ve ikicisi diyastolik kan basıncı halk arasında küçük tansiyondur (2).

Büyük tansiyon 16 santimetre civa (cmHg) ve küçük tansiyon 9,5 cmHg üstünde bulunduğu takdirde hipertansiyon olarak kabul edilir (11).

Hipertansiyon Belirtileri:

- a- Ensedene giren baş ağrıları
- b- Baş dönmesi
- c- Bulantı (bazen)
- d- Burun kanaması
- e- Halsizlik
- f- Gözde kararma
- g- Kafa içi dolgunluk hissi
- h- Kalp çarpıntısı
- i- Bazen de hiç belirti olmayabilir

Bir defalık ölçümde tansiyon yüksek bulunması hipertansiyon olarak kabul edilmez, en az üç gün süre ile her gün istirahat halinde ve oturur durumda iken tansiyon ölçülür ve buna göre karar verilir (2). Çünkü anlık değişimler tansiyonun yüksekliği veya düşüklüğü

hakkında yanlış bilgi verebilir. Bunu önlemek için yukarıda anlatıldığı şekilde tansiyon ölçülür (3).

Sebebine Göre Hipertansiyon İki Guruba Ayrılır:

- a- Esansiyel hipertansiyon (sebebi belli olmayan)
- b- Sekonder hipertansiyon (başka bir hastalıktan dolayı ortaya çıkan hipertansiyon, örneğin damar sertliği veya böbrek yetersizliği gibi) (4).

HİPERTANSİYON OLUŞMASINDAKİ FAKTÖRLER

Değiştirilemez Faktörler

a) Kalıtım: Ailesinde hipertansiyon hastası bulunan kimselerde hipertansiyon gelişme riski yüksektir. Ancak bu hipertansiyonluların yakınlarında da mutlaka hipertansiyon gelişeceği anlamına gelmez. Ancak bu kişiler yine risk altındadırlar (1, 2, 3).

b) Yaş: Hipertansiyon genellikle 35 ile 50 yaşları arasında ortaya çıkar. Ancak bu hastalık daha genç yaşlarda da gelişebilir (4).

c) Cinsiyet: Hipertansiyon 50 yaş alındaki erkeklerde, kadınlara göre daha sık görülür. 50 yaş üstünde ise kadınlarda erkeklere göre sıklığı artar (4).

d) Şeker Hastalığı: Şeker hastalarında hipertansiyonun ortaya çıkma riski, şeker hastası olmayanlara göre daha fazladır. Şeker hastalarında hipertansiyonun kontrolü çok daha önemlidir (5).

Değiştirilebilir Faktörler

a) Şişmanlık: Fazla kilolar, kan basıncı üzerinde olumsuz rol oynayarak hipertansiyona zemin hazırlar. Bu yüzden fazla kiloların verilmesi, kan basıncının normal düzeye indirilmesine büyük ölçüde yardımcı olur. Kabaca 1 kilo kaybetmek ile tansiyon 0.2 cmHg düşer. Örnek 100 kilo olan ve normal tansiyonu 18 cmHg civarında olan bir hasta 20 kilo verir ise $20 \times 0.2 = 4$ cmHg tansiyonu düşer ve $18 - 4 = 14$ cmHg olur (6).

b) Sigara: Sigara, hipertansiyonun damarlar üzerindeki zararlı etkilerini hızlandırır (7).

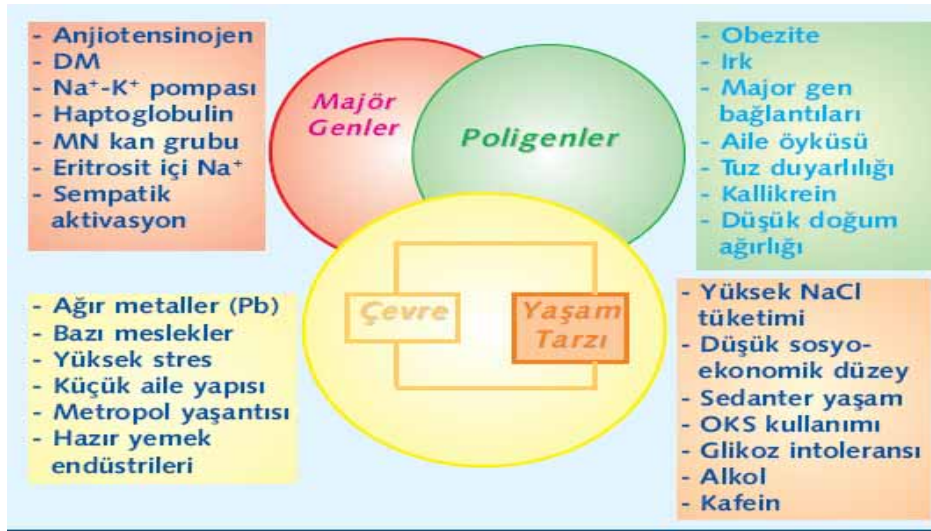
c) Tuz: Yüksek kan basıncı, tuzlu yiyeceklerle daha da yükselir (8).

d) Stres: Aşırı sıkıntılı bir yaşam biçimi, hipertansiyonun ortaya çıkması için zemin hazırlar (9).

e) Egzersiz: Düzenli yapılan egzersiz ve spor, kalp ve damar sistemindeki kasları güçlendireceği için hipertansiyonun kontrol altına alınmasını kolaylaştırır (12).

f) Fazla alkol tüketimi: Aşırı miktarda alınan alkol, damar sağlığı üzerinde olumsuz etkilerde bulunur.

Hipertansiyon üstüne etki eden faktörler Şekil 1 de gösterilmiştir.



Şekil 1: Hipertansiyon etiopatogenezini oluşturan öğeler (8).

Hipertansiyon, tüm dünyada ciddi olarak insan ve toplum sağlığını tehdit eden, kalp krizi, felç ve böbrek yetmezliği gibi ölümcül sonuçlara yol açan, tehlikeli ve yaygın bir hastalıktır. Kan basıncı ile kalp damar hastalıkları arasında yakın ilişki vardır. Kan basıncı ne kadar yüksekse kalp krizi, kalp yetmezliği, felç, göz ve böbrek hastalıkları gelişme riski de o kadar yüksektir (5).

Hipertansiyonun oluşturduğu şikayetler siliik, oldukça az veya hiç yoktur. Bu yüzden "sessiz katil" olarak adlandırılır. Hipertansiyonu olanların yalnızca yarısı hastalıklarının farkındadır, farkında olanların ancak yarısı ilaç kullanmakta, ilaç kullananların ise ancak yarısının tansiyonu kontrol altındadır. Türkiye'de her 3 kişiden biri hipertansiyon hastasıdır. Hipertansiyonun yol açtığı birçok ölüm, erken tanı ve tedavi ile önlenabilir. Önemli olan hastalığın çok önemli olduğunu kabul etmek ve yapılması gerekenleri yapmaktır (10).

Tansiyon, kanın damarlar içindeki sahip olduğu basınçtır. Bu basıncın bir üst sınırı (büyük veya sistolik tansiyon), bir de alt sınırı (küçük veya diyastolik tansiyon) vardır. Hipertansiyon ise bu basıncın insan sağlığını tehdit edecek boyutlara çıkmasıdır (11).

Normal tansiyon; normalde küçük tansiyon 80 milimetre civanın (80mmHg) veya 8 cmHg, büyük tansiyon ise 120 mmHg (veya 12cmHg) civarındadır. Büyük tansiyonu 140 mm civanın, küçük tansiyonu ise 90 mm civanın üzerinde olan kişiler, hipertansiyonlu olarak nitelendirilir. Büyük tansiyonu 120-139 mm civa arasında, küçük tansiyonu ise 80-89 mm civa arasında olan kişiler ise hipertansiyon adaylarıdır (2, 3).

Normal ve Yüksek Kan Basınçları:

Sistolik ve diyastolik kan basınçlarının (KB) bilinmesi, nabız sayısı ile birlikte, kalp ve kan dolaşım sistemi hakkında önemli bazı bilgiler sağlar. Büyük ve küçük tansiyon değerleri tek tek veya birlikte normalden yüksekse, kalp daha fazla yük altında çalışıyor demektir. Tansiyon değeri sabit bir rakam değildir. Normalin alt ve üst sınırları vardır. Bu sınırlar da kişinin yaşına, cinsiyetine, ırkına ve başka faktörlere göre değişmektedir (4,10). KB, günlük hayatımızda sabit olmayıp, dakikalık, saatlik veya günlük değişimler gösterir, örneğin hızlı yürüme, yük taşıma, heyecanlanma gibi durumlarda biraz yükselir, istirahat halinde veya uyurken biraz düşer. Bu oynamalar normaldir (hipertansiyonlu kişilerde de yüksek değerlerde bu oynamalar genellikle vardır). Günlük hayatta sistolik KB'nin 90-140 mmHg arasında değişiklik göstermesi, diyastolik basınç normal sınırlarda kalırsa normal bir durumdur (1, 3, 4). Erişkin yaşta ideal KB değeri yapılan araştırmalarda belirlenmiştir. Bu değer 120/80 mmHg'dir. Normalin üst sınırı ise sistolik 130mmHg, diyastolik 85 mmHg'dir. Yüksek normal değerler ise sistolik 130-139mmHg veya diyastolik 85-89 mmHg'dir. Erişkinlerde günümüzde kabul edilen KB sınıflandırması Tablo 1'de gösterilmiştir (3).

Tablo 1: Kan basıncı sınıflandırılması

Normal Kan Basıncı	Sistolik	Diyastolik
Optimal	≤120 ve	≤80
Normal	≤130 ve	≤85
Yüksek-normal	130-139 veya	85-89
Yüksek Kan Basıncı		
Evre I (Hafif)	140-159 veya	90-99
Evre II (Orta)	160-179 veya	100-109
Evre III (Şiddetli)	≥180 veya	≥ 110
Yalnız sistolik hipertansiyon	>140	<90

Hipertansiyonun Hedef Organları:

a) Kalp: Yüksek basınca karşı kanı pompalayan kalbin sol karıncık kasında zaman içinde kalınlaşma ve karıncıkta büyüme meydana gelir. Bu büyüme fazlalaşınca kalp kasında yorgunluk, zayıflık gelişir ve sol kalp yetersizliği diye bilinen tablo ortaya çıkar (11).

b) Kalbin Atardamarları (Koroner Arterler): Kalp kasını besleyen koroner arterlerde damar sertliğine bağlı daralma ve tıkanmalar (kalp enfarktüsü) hipertansiyonlu hastalarda daha sık görülür. Bir yaşlanma olayı olan damar sertliği (ateroskleroz) çok nedenli karmaşık bir süreçtir ama hipertansiyon en önemli risk faktörlerinden biridir (11, 12).

c) Aort yırtılması: Seyrek görülen ama tedavisi acilen yapılmazsa ölümlü sonuçlanabilen, oluşmasında hipertansiyonun rol oynadığı bir hastalıktır (10).

d) Beyin atardamarları: Hipertansiyon tedavi edilmediği takdirde beyin arterlerinde tıkanma, kanama ve beyinde kanlanma azlığı ataklarına neden olabilmektedir. Böylece oluşan felçler (inme) hastanın hem sakat ve yatalak kalması, hem de erken ölüm sebebidir (13).

e) Beyin ödemi: Tedavi görmeyen ve tansiyonu hızla yükselen hastalarda görülebilen az rastlanan bir tablodur. Acil ama dikkatli tedaviyle düzelir (14).

f) Bacak atardamarları: Bu damarlardaki tıkanma ve daralmalar, hipertansiyonlu ve özellikle fazla sigara içen hastalarda sık görülür. Yürürken baldır veya bacak ağrısı oluşur, durunca hemen geçer. Tedavi edilmezse ayakta kangren oluşabilir (15).

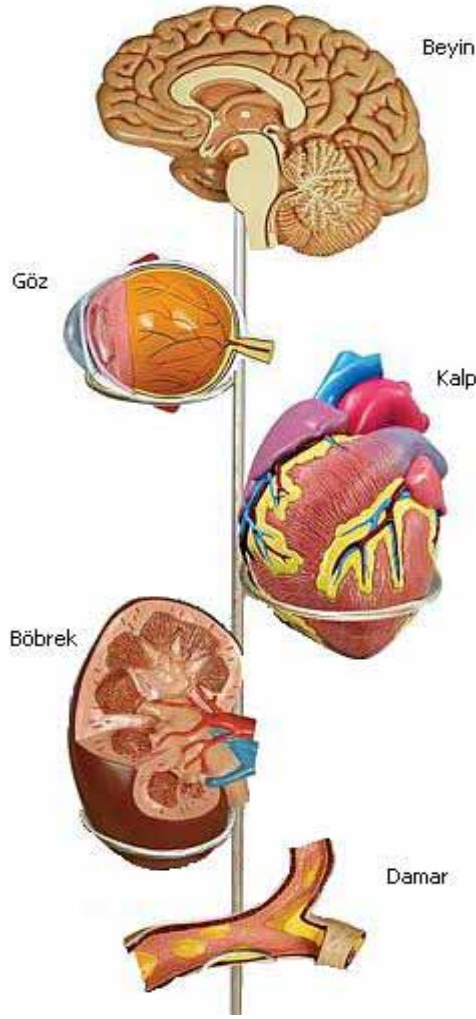
g) Böbrek: Tedavi görmeyen esansiyel hipertansiyonlu hastalarda, böbrek damarlarında tahribat olmakta ve böbreklerde çalışma bozukluğu zaman içinde yerleşmekte ve ilerlemektedir. Böylece hipertansiyonlu hastaların bir kısmında “üremi” hastalığı gelişebilir (16).

h) Göz: Hipertansiyon gözün iç tabakasındaki ince damarları etkileyerek kanamalara ve bazen körlüğe kadar giden görme bozukluklarına yol açabilir (11).

Hipertansiyonun hedef organları Şekil 2’de gösterilmiştir.

Poligenik HT

Poligenik HT özellikleri sıralanacak olursa; tuza duyarlı HT, idrarda artmış kortizol, eritrosit membranından iyon geçiş bozuklukları, idrar kallikrein atılım defektleri, baroreflaks duyarlılığı, sempatik sinir sistemi aşırı aktivasyonu, renin-anjiyotensin sistemi bozuklukları gibi birçok değişik sorun izlenmektedir (11). Özellikle tuza duyarlı HT konusunda ciddi



Şekil 2: Hedef organlar

araştırmalar yürütülmektedir (1). İlk olarak ABD'de yaşayan zencilerin KB'larının Afrika'dakilere göre yüksek saptanması ile gündeme gelmiş ve arkasından aslında tüm ırklarda görülebilen bir durum olduğu anlaşılmıştır (7). Afrika'da yaşayanlara karşı ABD'deki zenciler daha fazla kalori alıp (insülin duyarlılığı ve glikoz intoleransı), tuz tüketirler ve daha az fiziksel aktivite gösterip belirgin ölçüde obezdirler. Çekici bir teoriye göre, bu zencilerin ataları, Amerika'nın kolonileştirildiği kölelik devrinde, ani bir yapay seleksiyona, uğramışlardır (15). Afrika'dan Amerika'ya aylarca süren gemi yolculuğu sırasında binlercesi ölen bu insanlardan, böbreklerinde su ve tuz tutma yeteneği daha gelişmiş olanların yaşamda kalma şansı daha fazla olmuştur. Ayrıca genotipleri düşük tuz ve kalori alımına uyum sağlayan zencilerin çevresel koşullarının değişmesi, fizyolojik sistemlerince desteklenmemiştir. Normalde yüksek NaCl (>110 mmol/gün yada 6 gr/gün) alımına fizyolojik yanıt renal kan akımının hızlanması sonucunda glomerül filtrasyon hızının artışıdır (1, 8). Tuza duyarlı bireylerde ise tuz alımı ile renal kan akımı azalırken intraglomerüler basınç

düŖer. Bu bireylerde renal fonksiyon (basınç-natriürez) eğrisi tuza dirençli olanlardan daha düşüktür (17). Sonuçta tuza duyarlı bireylerde idrara tuz geçiŖi çok daha yavaş olmakta ve vücut tuzu tutmaya eğilim göstermektedir. Tuza duyarlı olan hastalarda diğerklerine göre daha ciddi kardiyovasküler ve renal prognoz izlenmektedir (18). Düşük Doğum Ağırlığı: İlk kez 20 yıl kadar önce düşük doğum ağırlılığına sahip çocukların erişkin yaşlarda HT geliŖtirmeye eğilimli oldukları öne sürülmüştür (19, 20). Ayrıca bu bireylerin ileride diabetes mellitus (DM), hiperlipidemi ve visseral obeziteye sahip olma riskinin normal bireylere göre daha yüksek seyrettiğı rapor edilmiştir. Çelişkili sonuçlar alınsa da, yapılan çalışmalarda her 1 kg eksik doğum tartısının ileride 2,24 mmHg sistolik kan basıncında artışla sonuçlandığı gösterilmiştir (1, 5). Bu konu ile ilgili temel görüş, bu bireylerdeki nefron sayısının normalin altında olduğı ve böbrek süzme alanının azalmasıyla HT'nin oluştuğı yönündedir (21).

Sendrom X (Raven Hastalığı): Raven tarafından tanımlanan bu sendromun bileşenleri, yüksek trigliserid düzeyleri, obezite, hiperinsülinemi, düşük HDL düzeyi ve HT'dir (22). Raven sendromunun genetik geçiŖi ve ailesel dağılımları oldukça iyi tanımlanmıştır. Bu olguların bazılarında saptanan yüksek serum anjiyotensinojen düzeyleri yüksek KB'yi açıklayabilirken tüm olgulardaki tabloyu yansıtmamaktadır.

Monogenik HT: Monogenik esansiyel HT nedenleri ile ilgili bugüne kadar suçlanmış mutasyonlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Önemli olanları ise glukokortikoid yanıtı aldosteronizm, Addusin gen defektleri, AME sendromu, Liddle hastalığı, GYS-1 mutasyonu olarak sıralanabilir (24).

Tablo 2: Esansiyel hipertansiyon etiolojisinde suçlanan genetik bozukluklar (8).

Genetik mutasyon	Mekanizma	Kaynak
Glukokortikoid Resöpteri	Artan Glukokortikoidler	Watt ve ark., 1992
Anjiotensinojen Gen Polimorfizmi	Artan Anjiotensinojen	Jeunomaitre ve ark., 1992
SA Geni	Bilinmiyor	Iwai ve ark., 1994
Lipoprotein Lipaz	İnsülin Rezistansı	Wu ve Ark., 1996
Kalıtısal Hiperaldosteronizm	Artan Mineralokortikoid Etki	Lifton ve ark 1992
Doğumsal Adrenal Sendrom	Artan Mineralokortikoid Etki	Mune ve ark., 1995
Liddle Sendromu	Hipopotasemi	Shimkets ve ark., 1994
Gitelman Sendromu	Hipopotasemi	Simon ve ark., 1996
Polikistik Böbrek Hastalığı	Böbrek Kistleri	Reeders ve ark., 1986

Glukokortikoid Yanıtı Aldosteronizm: Otozomal dominant geçişli bu sendrom, aldosteron sentoz genindeki mutasyon sonucunda ortaya çıkar (22).

basıncının yükselmesine neden olmaktadır (Şekil 3). Olgularda polimorfizm sonucunda genotipik değişimler izlenmektedir. Tanı, idrardaki kortizol/kortizon oranındaki artışın görülmesi ile konulmaktadır.

Liddle Sendromu: Otozomal dominant geçişli bir hastalıktır. Erken dönemde hipokalemik hipertansiyon ile birlikte düşük renin ve aldosteron düzeyleri izlenir (19). Klinik duruma yol açan sorun distal tübül hücrelerindeki epiteliyal sodyum kanallarındadır (ENaC). ENaC birbirinin benzeri üç ayrı (α , β , γ) bileşene sahiptir. Bu kanalların başlıca görevleri aldosteronun etkisi altında Na^+ geri emilimidir. Onaltıncı kromozomda bu geni kodlayan enzimdeki defekt sonucunda bu kanallar aşırı aktivasyon göstermekte, renal Na^+ geri emilimi ve K^+ salınımı artmaktadır (26).

Kas Glikojen Sentaz Geni (GYS-1): Glikojen sentaz enzimi kas dokusuna insülin uyarımı ile glikojen alma mekanizmalarında kilit rol oynamaktadır. GYS-1 geni buna bağlı olarak iskelet kasına bağlı insülin direncinde önemli bir aday olarak görülmektedir. GYS-1 genin değişik polimorfik çeşitleri ile insülin direnci, tip-2 DM ve HT arasındaki ilişki bir çok çalışmada gösterilmiştir (6). İnsan genomu çalışmaları hastalıkların anlaşılması konusunda oldukça önemli sonuçlar vermekte ve pek çok hastalığın temel yapısını moleküler düzeyde kavramamıza yol açmaktadır. Esansiyel HT'nin gizemli altyapısının kavranması için eldeki ipuçlarının değerlendirilmesi sonucunda çalışmalar moleküler genetik araştırmalara kaymıştır. Bu konudaki en umut veren çalışmalar ise, böbreklerdeki iyon değişimi mekanizmaları üzerinde yoğunlaşmıştır (27).

Hipertansiyon saptanan bireylerde yapılan idrar ve kan analizleri ile % 27,4'ünde böbrek hasarının göstergesi olan "mikroalbuminüri"nin varlığı saptanmıştır. Her 3 hipertansiyonlu birinde böbrek hasarı saptanmasının altında yatan neden, hipertansiyonun geç fark edilmesi ve yeterince kontrol altında tutulmamasıdır (22).

Angiotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi

Angiotensin dönüştürücü enzim (ACE), bilindiği gibi renin-angiotensin-aldosteron sisteminde önemli bir enzimdir ve ACE inhibitörleri klinikte tedavi amaçlı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (6, 11, 13). Renin angiotensin sisteminde ACE'nin rolü su ve tuz kaybı olduğunda veya sempatik aktivasyon durumunda böbreğin juxtaglomerüler aparatustan renin salınımı meydana gelir (1, 13). Bu da karaciğerde sentezlenen angiotensinojeni

angiotensin I'e dönüştürür. Angiotensin I ise birçok damarın endotelinde bulunan, pulmoner damarlarda ise yüksek konsantrasyonlarda var olan ACE ile angiotensin II'ye dönüşür (15). Kuvvetli bir vazokonstriktör olan angiotensin II ise adrenal korteksten aldosteron salgılanmasını uyarır. Aldosteron ise sodyum iyonunun tutulmasına yol açmaktadır (15). Angiotensin II de aminopeptidaz A (Angiotensinaz) ile angiotensin III'e dönüştürülür (8, 14). Angiotensin III de aldosteronun adrenal üretiminde güçlü bir stimülatördür (15). Tüm memeli dokularının endotel hücreleri luminal yüzlerinde ACE eksprese eder ve çözülür formda salgırlar (8). Akciğer ile beyin mikrovasküler ve kapiller hücreleri ACE'den zengindir. Ayrıca barsak, koroid pleksus ve böbrek tübül hücreleri de ACE'den zengindir (16). ACE angiotensin I'i angiotensin II'ye dönüştürmesinden başka endoteliyal yüzeyde bir vazodilatatör olan bradikinin degradasyonunu sağlayan ve bunun sonucu olarak vazoaktif peptit metabolizmasında önemli olan, aktif merkezinde çinko bulunan metallopeptidaz bir enzimdir (12).

Bilindiği gibi bradikinin damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder ve nitrik oksit, prostasiklin gibi vazodilatatörlerin endotelden salınmasını inhibe eder (8). ACE, vazodilatatör bradikinin inaktivasyonunda primer rol oynadığı için ve bu olayın kan basıncı ile elektrolit homeostazisindeki önemi nedeniyle ACE inhibisyonunun hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliği tedavisindeki başarısından bahsedilir (16). Tüm bunların sonucunda ACE kardiovasküler sistemin ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli role sahiptir (1,3).

ACE I/D Polimorfizmi

ACE vasküler endotelyal hücreler tarafından sentezlenir ve sınıf 1 integral ektoenzim olarak plazma membranına eksprese edilir (4). ACE gen ekspresyonu hala büyük ölçüde bilinmemekle birlikte dokuya spesifik olabileceği düşünülmektedir (1). ACE geninin 78 polimorfizmi saptanmıştır (5). Bunların arasında en çok çalışılanı ACE insertion/deletion (I/D) polimorfizmidir. ACE geni 17. kromozomda lokalizedir. Gen 26 ekzon ve 25 intron içerir (8). Genin 16. intronunda 287 baz çiftlik bir kısmının tekrarlanmasıyla bu polimorfizm meydana gelir (1, 6, 7, 12). Bu polimorfizmde ACE D/D ve I/I homozigot, ACE I/D ise heterozigottur (9, 28). ACE genindeki bu insertion ACE ekspresyonunu azaltır, böylece II homozigotlara göre DD homozigotlar %65, ID heterozigotlar ise %31 daha fazla ACE'ye sahiptir (6). I alellilerde gözlenen düşük ACE aktivitesi, bradikininin yarı ömrünün artması ve angiotensin II üretimindeki azalma, endotele bağlı artmış vazodilatasyon sebebiyle ACE genotipinin fizyolojik önemini vurgulamaktadır (9). ACE I/D polimorfizminin hastalıklar ile

ilişkisi; ACE I/D polimorfizmi ile koroner kalp hastalığı (18), ventriküler hipertrofi, miyokard enfarktüsü, koroner anjioplasti sonrası restenoz, kardiyomiyopati ve ani kardiyak ölüm gibi birçok patolojik durumun gelişimi arasında ilişki bulunduğu bildirilmiştir (10, 11, 15). Türk toplumunda da koroner arter hastalığı ile D aleli arasında bir ilişki olabileceği gösterilmiştir (15). DD genotipli kişilerde sol ventrikül sistolik performansının azalmasında, ilerleyici sol ventrikül dilatasyonunda, kalp yetmezliğindeki hastaların mortalitesinde II genotipli kişilere göre bir artış olduğu bildirilmektedir (15, 19). Bununla birlikte bariz etnik farklılıklar bulunmaktadır (16).

ACE D alelli kişilerde plazma ACE aktivitesinin, ACE I alelli kişilere göre daha yüksek olduğu yapılan araştırmalarla bildirilmiştir (14, 17, 21). Türk toplumunda yapılan bir araştırmada pozitif aile hikayesi olan ciddi hipertansiyonlu hastalarda DD genotipinin predispozan bir faktör olduğu ve ACE I/D polimorfizminin hipertansiyon üzerine bağımsız faktörlerden biri olarak etki edebileceği sonucuna varılmıştır (22). Erkeklerde ACE genotipi ile diastolik kan basıncı arasında bir ilişki bulunduğunu bildiren çalışmaların (23) yanında, ACE genotipi ile kan basıncı arasında bir ilişki bulunmadığını bildiren araştırmalarda bulunmaktadır (24). Başka bir araştırmada ise Tip II diabetik hastalarda hipertansiyon ile ACE I/D polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmamıştır (6). ACE D alelinin akut beyin iskemisi (26), sarkoidoz (27) olgularında bir rolü olduğunu bildiren araştırmalar bulunmaktadır. Ayrıca ACE genotipine göre damar duvarında yapısal değişiklikler olduğu da bildirilmektedir (28, 29, 32). Serum ACE aktivitesi ile miyokard enfarktüsü ve koroner arter hastalığı arasında da bir ilişki bulunduğunu bildiren araştırmalar bulunmaktadır (21, 22,34). ACE DD genotipli hemodiyaliz hastalarının hemodiyaliz için yüksek risk taşıdığı da başka bir çalışmanın sonucu olarak bildirilmektedir (23, 42).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

Çalışmamızda; 79 hasta (48 kadın, 31 erkek) ve 38 kontrol (14 kadın, 24 erkek) çalışıldı. Hasta gurubunun yaş ortalaması 43.52 ± 8.06 ve kontrol gurubunun yaş ortalaması 38.40 ± 6.53 olarak hesaplanmıştır.

Kan basıncı; Hasta ve kontrollerin kan basınçları 12 saatlik açlık süresinden sonra 5 dakika oturmaları sağlanarak dinlenme halinde manuel spingomanometre ile ölçülmüştür. Hipertansiyonlular sistolik kan basınçları (SKB) 140 mmHg ve üstü olanlar; diyastolik kan basıncı 90 mmHg ve üstü olarak ölçülenler alınmıştır.

Daha sonra bu belirlenen kontrol ve hasta guruplarından 2 ml EDTA'lı vakumlu tüplere kanları alınmıştır. Bu alınan kan örneklerinden tuz-çöktürme yöntemi ile DNA izole edilmiş ve izolasyondan sonra Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile ACE geninin 16.intronunun I/D allelinden hangisine sahip olduğu % 2'lik agaroz jellere yükleyip ultraviyole ışık altında karar verilmiş ardında da I alleli taşıyanlar için doğrulama PCR'i yapılmıştır.

KİMYASAL MALZEMELER

Agaroz (Sigma)

Borik Asit (Sigma)

dNTP (deoksi Nükleotid Tri Fosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (MBI)

Etanol %100 (Promega)

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Sigma)
Magnezyumklorur (Sigma)
Proteinaz K (BioBasic)
Sodyum Dodesil Sülfat SDS (Sigma)
Taq Polimeraz Seti (BioBasic)
Trisma Base (Sigma)

ÇALIŞMADA KULLANILAN CİHAZLAR

Agaroz Elektroforez Tankı (Bio-Metra)
Derin Dondurucu (Vestel)
Distile Su Cihazı (Nüve)
Dijital Fotoğraf makinesi (Kodak EasyShare 2330)
Güç Kaynağı (Bio-Metra)
Manyetik Karıştırıcı (Nüve)
Otoklav (Nüve)
Otomatik Mikro Pipetler (Socorex)
pH metre (Schott)
Santrifüj (Hettich)
Spektrofotometre (Biotech)
Terazi (Scaltec)
ThermalCycler (Techne)
Vorteks (Nüve)

ÇÖZELTİLER

Agaroz Jel Elektroforezi çözeltisi

10X Yükleme Çözeltisi

4 gr Sukroz
25 mg BPB (Bromofenolmavisi)
dH₂O ile 10 ml'ye tamamlanır.

10X TEB (Tris Borat Elektroforez Çözeltisi) (1 litre için) pH 7.4

54 gr Tris bazı

3.32 gr EDTA

27.5 gr Borik Asit

DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

Hücre Parçalama Çözeltisi

155 mM NH₄Cl

10 mM KHCO₃

0.1 mM EDTA

Çekirdek Parçalama Çözeltisi (pH; 8.2)

mM Tris-HCl

400 mM NaCl

2 mM EDTA

SDS (Sodyum Dodesil Sülfat): %10

Proteinaz K: 20 mg /ml

YÖNTEMLER

DNA İZOLASYONU

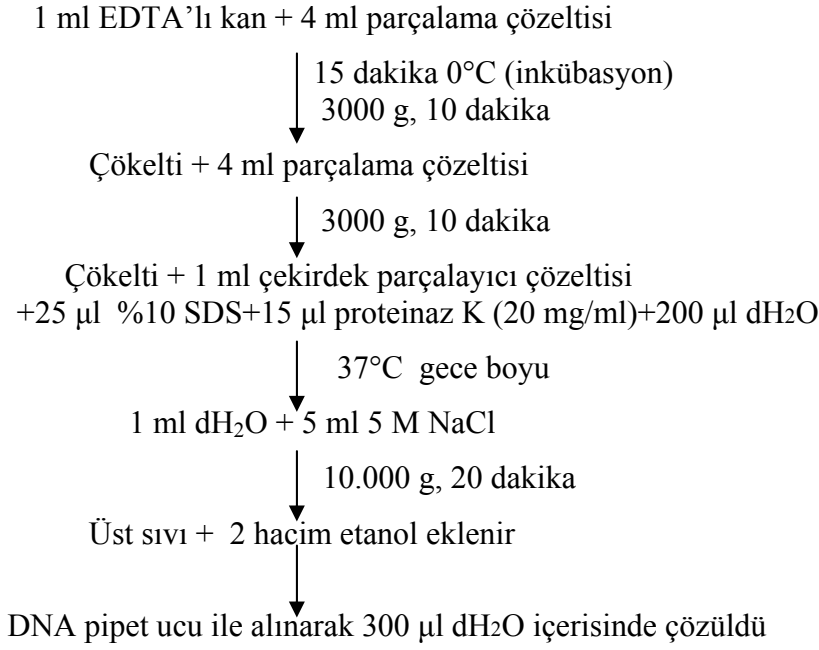
Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden Şekil 4'te gösterilen yöntem ile DNA izole edildi. İzole edilen DNA distile su içinde çözüldü ve konsantrasyonları 260 nanometre (260 nm) dalga boyunda okunarak; optik yoğunlukları ile DNA miktarları aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi.

$DNA (\mu g/ml) = 260 \text{ nm'deki OD} \times \text{sulandırma oranı} \times \text{katsayı (DNA için 50)}$.

DNA'nın saflığı ise 260 nm ile 280 nm dalga boylarındaki optik yoğunluk değerlerinin oranıyla belirlendi. DNA'ların kalitesi agaroz jellere yüklenerek kontrol edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ACE genin 16. intronu aşağıdaki primer dizileri kullanılarak çoğaltılmıştır Tablo 3.



Şekil 4: Kan örneklerinden DNA izole yöntemi.

Tablo 3: ACE gen I / D polimorfizmi için kullanılan primer tablosu

ACE I / D	Kullanılan Primer Dizileri	Ürün Uzunluğu
I / D	ACE- ID1: CTGGAGACCACTCCCATCCTTCT	D alleli için 190 bç
	ACE-ID2: GATGTGGCCATCACATTGGTCAGAT	I alleli için 490 bç
D / D	Doğrulama primerleri: ACE- DD1: TTTGAGACGGAGTCTCGCTC	D alleli için 190 bç
	ACE- DD2: GTTTGAATCCATGCTTTGCTC	I alleli için 270 bç

İlgili gen bölgesi yukarıda verilen primer dizileri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. Reaksiyon toplam 25 µl'lik hacimde gerçekleştirildi. Daha sonra PCR'ürünleri % 2'lik agarozda yürütülerek, ilgili hastaların ACE geni bakımından II, ID yada DD genotiplerinden hangilerine sahip oldukları ultraviyole ışık altında belirlendi.

PCR Koşulları

Reaksiyon ortamı : 1 x PCR tamponu
1.5 mM MgCl₂
0.2 mM dNTP karışım
1.25 U Taq polimeraz
0.16 µM her bir primer
.....µl dH₂O
Toplam hacim : 25 µl

Döngü:

Başlangıç 94°C , 5 dakika

94°C , 1 dakika

58°C , 1 dakika

72°C , 2 dakika

30 Döngü

Sonlanma 72°C , 5 dakika

BULGULAR

Çalışmamız sonucu elde edilen sonuçlar aşağıdaki Tablo 4 ve Tablo 5'te gösterilmiştir.

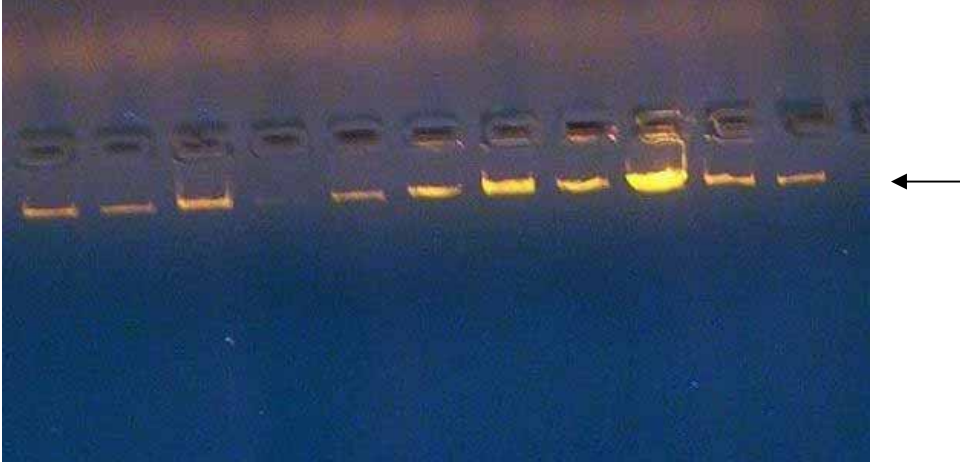
Tablo 4 :Kontrol ve hasta guruplarının klinik bulguları

	Kontrol (n=38)	Hasta (n=80)
Cinsiyet (K : E)	24 : 14	48 : 31
Yaş	38.40 - +6.53	43.52 - + 3.37
VKİ (Kg / m²)	117 - + 9.98	155.59 - + 11.31
SKB (mmHg)	117.11 - + 9.98	155.59 - + 11.31
DKB (mmHg)	74.63 - + 7.0	98.25 - + 6.47

Tablo 5 :ACE genotiplerinin Kontrol ve Hasta guruplarındaki dağılımları

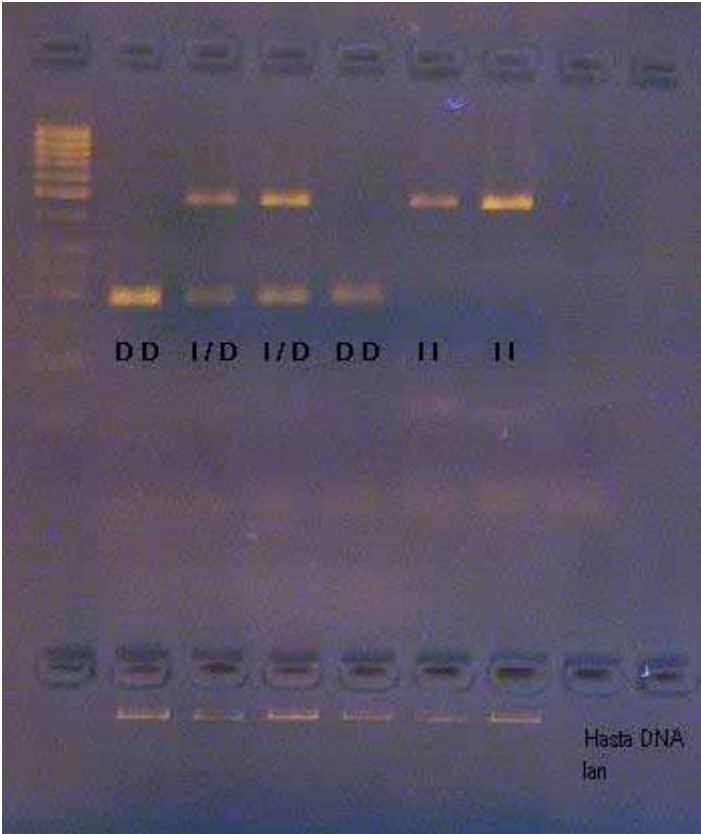
Değişkenler	Normal Kontrol	Primer Hipertansiyon
Genotip		
II	12 (31.6)	19 (24.1)
ID	15 (39.5)	34 (43.0)
DD	11 (28.9)	26 (32.9)
Alleller		
I	39(51.3)	72 (45, 6)
D	37 (48.7)	86 (54.4)

DNA örneklerinin %2 lik agaroz jelde PCR den önce yürütülerek izlendi (Resim 1)

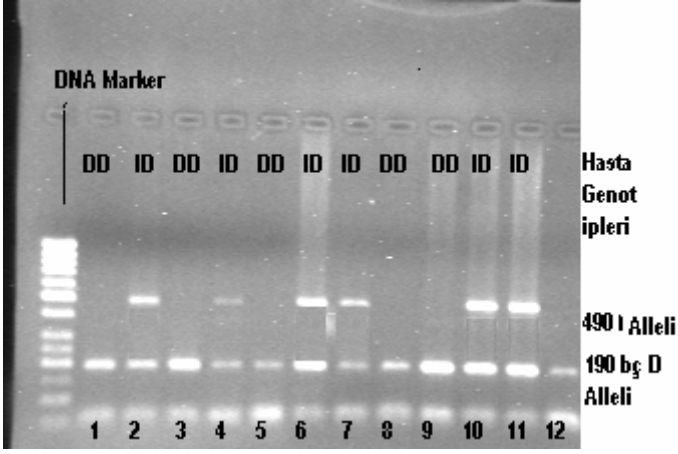


Resim 1: Hasta DNA örneklerinin %2 lik Agaroz jelde yürütülmesi (u.v ışık altında)

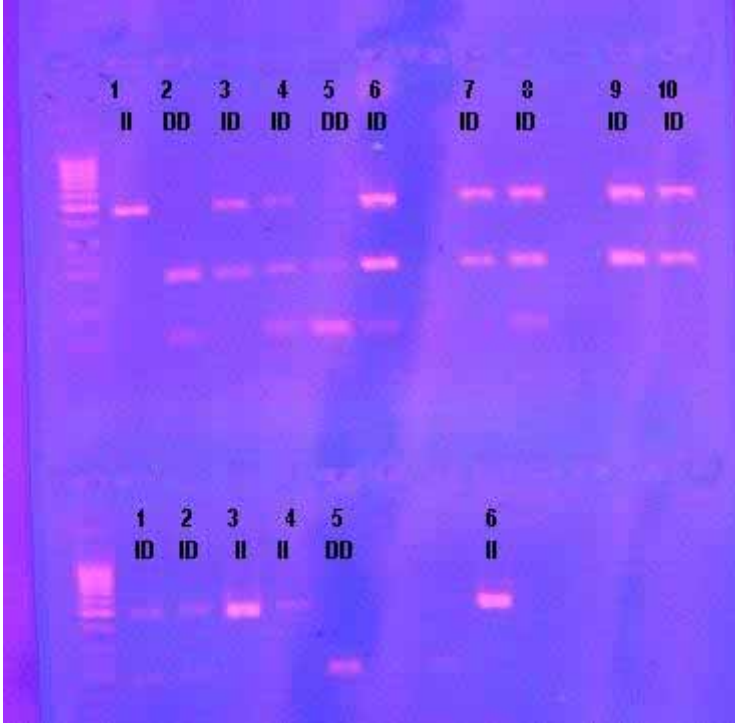
PCR ürünleri %2 lik agaroz jelde yürütülerek izlendi (Resim 2-4)



Resim 2: Hasta ve PCR ürünlerinin % 2lik aynı Agaroz jelde yürütülmesi (u.v ışık altında)



Resim 3: Hasta PCR lerinin %2 lik Agaroz jeldeki görüntüleri (u.v ışık altında)



Resim 4 :Hastaların %2 lik agaroz jel fotoğrafı (u.v ışık altında)

TARTIŞMA

Bazı çalışmalarda DD genotipinin hipertansiyonlu hastalardaki yüksek sıklığını ortaya koyarken bazı diğer çalışmalarda hipertansiyonlu hastalar ile kontrol gurupları arasındaki ACE gen polimorfizminin dağılımları arasında fark olmadığını göstermiştir.

Elde edilen sonuçların toplumda dengeli dağılıp dağılmadığını gözlemlemek için Kolmogrof-Smirnov istatistik testi uygulandı p değeri 0.05'den küçük (Tablo 6'da görüldüğü gibi) olduğu için dengeli dağıldığı görülmüştür.

Tablo 6: Bir örneklem Kolmogorov - Simirnov istatistik testi

Örnek sayısı	117
Normal parametreler ^{a,b} Ortalama	1.9487
Standart sapma	0.7639
Kolmogorov – Smirnof Z	2.277
P :	0.000

a:Test dağılımı Normal

b:Hesaplanmış veri

Bizim çalışmamızdaki genotip sıklığı ise şöyledir; II, ID, DD genotiplerinin erkeklerdeki frekansları sırasıyla 31.9, 36.2, 31.9'dur ve kadınlardaki sıklığı 17.8, 51.1 ve 31.1'dir. I ve D allellerinin sıklığı ise erkeklerde %50 kadınlarda 43.3, 56.7 dir. bütün örnekler içinse bu rakamlar sırasıyla %47.4 ve %52.6 dır. II, ID, DD genotiplerinin erkek hasta gurubundaki sıklığı sırasıyla 29.2, 39.6 ve 31.2 dir. Erkek kontrol grubundaki II, ID, DD

sıklığı ise sırasıyla 37.5, 29.2 ve 33.3 dür. İstatistiksel analizler; kontrol ve hasta gurupları arasında anlamlı bir fark göstermemiştir.

Kadın hasta gurubundaki II, ID, DD genotip sıklığı ise sırasıyla 16.1, 48.4 ve 35.5 dir. Bu genotiplerin kadın kontrol gurubundaki sıklığı ise sırasıyla 21.4, 57.2 ve 21, 4 dür.

Bu verilerin ışığında DD genotipinin hasta gurubundaki kadınlardaki sıklığının kontrol gurubundaki kadınlardan anlamlı şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada ACE genindeki DD genotipinin hipertansiyonlu kadın hastalardaki sıklığı topluma göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gösterilmiş fakat aynı fark erkek grubunda bulunmamıştır.

SONUÇLAR

Hipertansiyon (HT) dünyada oldukça yaygın ve çok yönlü bir toplum sağlığı sorunudur. Neden olduğu diğer organ hastalıkları aracılığı ile hasta mortalite ve morbitesi üzerinde oldukça önemli etkileri vardır. 1997 yılında ABD'de ilk basamak sağlık hizmetlerine yapılan en sık ikinci başvuruyu, %6,7 ile HT oluşturmuştur (1). Esansiyel HT olguların %95'ini, diğer tüm nedenler %5'lik bölümünü oluşturmaktadır. Önceki yıllarda bu kadar yaygın bir hastalığın etiopatogenezini açıklamaya yönelik kuramlar genellikle doyurucu olmaktan uzak kalmış ve sorunu tam olarak kavrayamamış gözükmektedir (32). Bu hipotezlerin ortak noktası, HT'nin basit mekanizmalara bağlı, oldukça homojen hasta gruplarında izlendiği yönündeydi. Bugün için kabul gören modern görüş, HT'nin çevresel etmenlerle, poligenik etmenlerin birbirleri ile etkileşmesinden kaynaklanan oldukça karmaşık, bireysel etiyojijiye sahip bir hastalık olduğu yönündedir (40).

Otuz yıl öncesinden başlayan esansiyel HT'nin etiyojijisindeki genetik yapının önemi hakkında ilk çalışmalar başlatılmıştır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda pozitif aile öyküsünün etiopatogenezde etkin olduğu, anne ya da babadan biri hipertansif ise çocuklarında HT gelişme riskinin iki kat arttığı saptanmıştır (42). Montreal evlat edindirme bürosunun yaptığı çalışmalarda, HT'ye genetik yatkınlık ve aynı ve uzun süre aynı çevresel etmenlere maruz kalmanın buna olan etkisi araştırılmış, genetik faktörlerin, olguların %20-30 gibi önemli bir kısmında etkin olduğu anlaşılmıştır (45). Hipertansif hastalarda genetik faktörler temelde iki grup olarak incelenmektedir. Bunlar tek gen ya da çoklu gen formlardır. Tek gen formlar daha ender izlenirken temelde sorun kan basıncını düzenleyen sistemlerin genlerindeki nokta mutasyonu ile oluşan genotipteki değişikliklerdir (46) Çok daha sık olduğu düşünülen çoklu gen formunda ise oldukça heterojen birçok sorun grubu aynı hastada bulunduğu gösterilmiştir (46).

Bu kadar bilginin ışığında hipertansiyona etki eden faktörler değişik iken bunların arasında en önemlilerinden olan genetik faktörlerin gösterilmiş olması bu konudaki ilgiyi arttırmıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre ise bizim çalışma gurubumuzdaki kadın hastalarda ACE geninin DD allelinin anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Fakat erkek hastalarda bu anlamlılık gösterilememiştir. Bu sebeple bu konudaki araştırmalar sürdürülmeli bu hastalığın ortaya çıkmasına sebep olan başka genetik faktörlerin bu hastalarda kadın / erkek farklılığı yaratıp yaratmadığı konusunda odaklanılmalı ve çalışmaların bu konuda etkili olduğu düşünülen diğer genlerle de etkileşim halinde olup olmadığına bakılmalıdır. Bu konulardaki çalışmalar arttıkça hipertansiyonun etiyolojisi üstündeki sis perdesi yavaş yavaş kalkmaya başlayacak ve elde edilen bu bilgilerin bu konularda çok yardımcı olacağı kesindir. Çalışmamızdan çıkarılacak sonuç hipertansiyondan tek gen sorumlu olmayıp çok daha fazla gen etkilidir (12,33,44). Bu sebeple bu tür genetik çalışmalar diğer genler içinde yapılmalı ve böylece hipertansiyonun epidemiyolojisi çok daha iyi anlaşılabilir hale gelebilir.

ÖZET

HİPERTANSİYONLU HASTALARDA ACE GEN POLİMORFİZMİ

METİN BUDAK

Hipertansiyon, önemli bir sağlık problemidir. Kan basıncı ve tuz dengesi üstündeki renin – angiotensin sistemi sayesinde düzenlenir. Angiotensin Converting Enzim (ACE)'de bu sisteme ait bir enzimdir. ACE İnsertion / Deletion (I/D) polimorfizmi çeşitli kardiovasküler hastalıklarda önemli olduğu gösterilmiştir. Fakat ACE I/D polimorfizminin hipertansiyonda rolü olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte hipertansiyona etkisi olmadığını gösteren çalışmalarda mevcuttur. Çalışmamızda 79 hipertansiyonlu hasta ve 38 kontrol gurubunda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve agaroz jel sistemi ile ACE I/D polimorfizmi çalışıldı. Erkek hasta ve kontrol guruplarında genotip dağılımları normal bulundu. ACE Deletion / Deletion (DD) genotipi kadın hasta gurubunda (%35.5) anlamlı şekilde kontrol gurubuna göre yüksek bulundu (%21.4). Bu sonuçlara göre ACE DD genotipi kadınlarda hipertansiyon ile ilişkili olduğu gösterildi ancak bu fark erkeklerde gösterilemedi.

Anahtar Kelimeler: Angiotensin Converting Enzim, Hipertansiyon, Polimorfizm

SUMMARY

ACE GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH HYPERTANSION

METİN BUDAK

Hypertension is common health problem. The renin aniotensin system(RAS) helps maintain blood pressure and salt homeostasis appears important in the hypertension. Angiotensin Converting Enzyme (ACE) a key component of RAS. Insertion/Deletion polymorphism of ACE gene has been implicated in the pathonesis of cardiovascular diseases. In addition to this, the association between ACE I/D polymorphism and hypertension is controversial, when numerous studies have addressed the role of ACE I/D polymorphism the development of hypertension, there were different studies showed that no correlation has been found between ACE I/D polymorphism and development of hypertension. We analyzed the ACE gene ACE I/D polymorphism in 79 patients with hyperension group and 38 age matched healthy individuals as a control goup by using a polymerase chain reaction assay, and agarose gel electrophoresis system. The genotype distribution were no different between the patients and normal control groups in the men. But the frequency of ACE Deletion /Deletion (DD) genotype in patients with hyperension (35.5%) was significantly higher than in controls (21.4%) in he women.

Key words: Angiotensin Converting Enzyme, Hypertension, Polymorphism

KAYNAKLAR

1. Karolina K. At al. GNB3 C825T and ACE I / D polymorphism on the Sodium – Proton Exchanger and the prevalence of Essential Hypertension in Males. Archives of Medical Research 2006, 37: 150 – 157
2. Ming –Chia Hsie at al. Increased frequency of Angiotensin – Convertin Enzyme DD genotype in patients with type diabetes in Taiwan. Nephrol Dial Transplant 2001;15: 1008-1013.
3. Jun – Hyun Yoo. Deletion polymorphism in the Angiotensin –Converting Enzyme is associated with essential hypertension in men born during the pasific war. Mecanisms of Ageing and Development .2005; 1001-1005.
4. Gian Paolo R. At al. Exclusion of the ACE I / D Gene polymorphism as a Determination of endothelial Dysfunction. Hypertansion. 2001;37: 293 – 300.
5. O’Donnell C. At al. Evidence for association and Genetic Linkage of the Angiotensin – Converting Enzyme Locus with Hypertansion and Blood Pressure in men but Women in the Framingham Heart Study. Circulation. 1998; 97: 1766 – 1772.
6. Yau – Jiunn Lee, Jack C.R. Tsai. ACE Gene insertion / deletion polymorphisim Associated with 1998 world healt organisation definition of metabolic syndrome in chinese type 2 diabetic patients. Diabetes Care 2002; 25: 1002 – 1008.
7. Vajay V. At al. Association between ACE Gene polymofphism and Diabetic Nephropathy in South İndian patients. J.Pancreas 2001; 2 (2): 83 – 87
8. Murat Yalçın, Esra Yalçın. Esansiyel Hipertansiyonda Genetik Etmenler, STED • 2004 • cilt 13 sayı 1: 9-11
9. Bilsborough W, Green DJ, Mamotte CD, Van Bockxmeer FM, O’Driscoll GJ, Taylor RR. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism, homocysteine, cholesterol and vascular endothelial function. Atherosclerosis 2003;169(1):131-8.
10. Donnita Crisan and Jeanne Carr. Angiotensin I- Converting Enzyme; Genotype and Disease Associations. Journal of Moleculer Diagnostics 2000; 2 (3) : 105 -115.
11. Arne P.at al. Angiotensin – Coverting Enzyme and Heart Chymase Gene polymorphism in Hypertrophic Cardiomyopathy. The American Journal of Cardiology. 1996; 78: 362 – 364.

12. Barış N. Ve ark. Esansiyel Hipertansiyonda hedef organ hasarı sayısı ile anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizmi arasındaki ilişki. *Türk Kardiyolo.Dern. Arş* 2004; 32: 107-114
13. Steen Anderson at al. Renoprotective effects of losart in diabetic nepropathy: İnteraction with ACE insertion-deletion genotype ? *Kidney İnternational* .2002; 62: 192-198
14. Akbulut Tamer ve ark. Anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizminin erken koroner arter hastalığı gelişimindeki rolü. *Türk Kardiyolo.Dern. Arş* 2004; 32: 23-27
15. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998;32(3):521-6.
16. Schmidt S, van Hooft IM, Grobbee DE, Ganten D, Ritz E. Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure. *J Hypertens* 1993; 11: 345-8.
17. Campese V M. Why is salt-sensitive hypertension so common in blacks? *Nephrology Dialysis Transplantation* 1996;12:399-403
18. Siren Sezer, Emre Tatal, Yelda Çınar, Fatma Belgin Atac, Fatma Nurhan Özdemir. Diyaliz Hastalarında RAS ve ecNOS Gen Polimorfizmleri: Sağkalım Üzerine Olası Etkileri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 2005; 14 (4):177-182
19. Ozdemir FN, Akcay A, Atac FB, Micozkadioglu H, Verdi H, Arat Z, Erdal R. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the endothelial constitutive nitric oxide synthase in Turkish end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18 (supp 4):436.
20. Walker BR, McConnachie A, Noon JP, Webb DJ, Watt GCM. Contribution of parental blood pressures to association between low birth weight and adoult high blood pressure: cross sectional study. *BMJ* 1998;316:834-837
21. Law CM, Sheill AW. Is blood pressure inversly related to birth weight? The stenght of evidence from a systemic review of the literature. *J Hypertension* 1996;14:935-941
22. Marjan A. At al. The ACE insertion / deletion polymorphism has no influence on progression of renal function loss in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* .2000. 15; 836 – 839.
23. Trevisan M, Liu J, Bahsas FB, Merotti A. Syndrome X and mortality: A populationbased study. Risk Factors and Life Expenctancy Research Group. *Am J Epidemiol* 1998;148: 958-966

24. Lalouel JM, Rohrwasser A, Terreros D, Morgan T, Ward K. Angiotensinogen in essential hypertension: From genetics to nephrology. *J the American Society of Nephrology* 2001;12: 606-615
25. Izewa H, Yamada Y, Okada T, Tanaka M, Hirayama H, Yokota M. Prediction of genetic risk for hypertension. *Hypertension* 2003;(10)1161:164 -175
26. Takami S, Katsuya T, Rakugi H, Sato N, Nakata Y, Kamitani A, et al. Angiotensin II Type 1 receptor gene polymorphism is associated with increase of left ventricular mass but not with hypertension. *Am J Hypertens* 1998;11(3 Pt 1):316-21.
27. Luft F.C. Molecular genetics of salt-sensitivity and hypertension. *Drug Metabolism and Disposition* 2001;(29): 4:500-504
28. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 1998; 32(1):3-8.
29. Kiyoshi H. et al. Angiotensin –Converting Enzyme Gene polymorphism adds Risk for severity of Coronary Atherosclerosis In Smokers. *Hypertension* 1997; 30: 574 – 584
30. Bihorac A, tezcan H, Özener Ç, Oktay A, Akoğlu E. Association between salt sensitivity and target organ damage in essential hypertension. *American J Hypertension* 2000;13:864-872
31. Francesca P. et al. Renovascular disease: Effect of ACE gene deletion polymorphism and endovascular revascularization. *Journal of Vascular Surgery.* 39;1: 141 – 147.
32. Sebahat Turgut. Angiotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2005;12(4), 53-57
33. Fu-Tien Chiang et al. Determination of Angiotensin – Converting Enzyme Gene polymorphisms: Stepdown PCR increases Detection of Heterozygotes. *Clinical Chemistry* 1998; 44 (6): 1353 – 1356
34. O'Donnell CJ, Lindpainter K, Larson MG, Ordovas JM, Myers RH, Levy D. The ACE deletion insertion polymorphism and hypertension: an association in the Framingham Heart Study (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1997; 29 (suppl A): 84A.
35. T. Sipahi. et al. Association between ACE Gene insertion (I) / deletion (D) polymorphism and primary hypertension in Turkish patients of Trakya Region. *Biotechnol & Biotechnol Eq.* 2006. 20; (2): 104 -108.
36. Tiret L, Blanc H, Ruidavets JB, Arveiler D, Luc G, Jeunemaitre X, et al. Gene polymorphisms of the renin- angiotensin system in relation to hypertension and parental history of myocardial infarction and stroke. *J Hypertens.* 1998; 16: 37-44.

37. Johnston CI. Tissue angiotensin converting enzyme in cardiac and vascular hypertrophy, repair, and remodeling. *Hypertension* 1994; 23: 258-68.
38. Nomura H, Koni I, Michishita Y, Morise T, Takeda R. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hemodialysis patients. *Lancet* 1994; 343: 482.
39. Cambien F, Costerousse O, Tiret L, Poirier O, Lecerf L, Gonzales MF, et al. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation* 1994; 90: 669-76.
40. Payne MN, Mc Donald F, Murray RG, Barlett WA. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening (letter). *Circulation* 1994; 90: 2566.
41. Fried W, Krempler F, Sandhofer F, Paulweber B. Insertion-deletion polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene and blood pressure during ergometry in normal males. *Clin Genet* 1996; 50: 541-4.
42. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi AM, Hemingway H, et al. Association of Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation* 1997; 96: 741-736.
43. Abdi R, Tran TB, Zee R, Brenner BM, Milford EL. Angiotensin gene polymorphism as a determinant of posttransplantation renal dysfunction and hypertension. *Transplantation* 2001;72(4):726-9.
44. Barocci S, Ginevri F, Valente U, Torre F, Gusmano R, Nocera A. Correlation between angiotensin-converting enzyme gene insertion/ deletion polymorphism and kidney graft long-term outcome in pediatric recipients. *Transplantation* 1999;67(4):534-8.
45. Dosh MS: The treatment of adults with essential hypertension. *The J Family practice* (serial on line) 2002 <http://www.jfp.online.com>
46. Oussame MN. Khatib Mohamed Sayed. Clinical Guidelines for the management of hypertension (Serial online) 2005. <http://www.emro.who.int/dsaf/dsa234.pdf>
47. Carretero OA, Oparil S: Essential Hypertension Part I: Definition and Etiology. *Circulation* 2000;101: 329-335
48. anunta P, Vecchio DL, Amar K, Bianchi G: Genetic determinants and renal mechanisms in essential hypertension. *J Human Hypertension*. 1996; 10(10):649-656

RESİMLEMELER LİSTESİ

Şekiller;

Sayfa

Şekil 1: Hipertansiyon etiopatogenezini oluşturan öğeler.....	6
Şekil 2: Hedef organlar.....	9
Şekil 3: Alfa adusunin distal nefrondaki etkisi.....	11
Şekil 4: Kan örneklerinden DNA izole yöntemi.....	18

Tablolar;

Tablo 1: Kan basıncı sınıflandırılması.....	7
Tablo 2: Esansiyel hipertansiyon etiolojisinde suçlanan genetik bozukluklar.....	10
Tablo 3: ACE gen I / D polimorfizmi için kullanılan primer tablosu.....	18
Tablo 4 :Kontrol ve hasta gruplarının klinik bulguları.....	20
Tablo 5 :ACE genotiplerinin Kontrol ve Hasta gruplarındaki dağılımları.....	20
Tablo 6: Kolmogrof-Smirnov istatistik testi.....	23

Resimler;

Resim 1: Hasta DNA örneklerinin %2 lik Agaroz jelde yürütülmesi (u.v ışık altında).....	21
Resim 2: Hasta ve PCR ürünlerinin % 2lik aynı Agaroz jelde yürütülmesi (u.v ışık altında).....	21
Resim 3: Hasta PCR lerinin %2 lik Agaroz jeldeki görüntüleri (u.v ışık altında).....	22
Resim 4 :Hastaların %2 lik agaroz jel fotoğrafı (u.v ışık altında).....	22

ÖZGEÇMİŞ.

Metin Budak

Doğum tarihi: 15. 06. 1976

EĞİTİM:

1990 – 1993 İstanbul, Şişli Lisesi

1993 – 1997 İstanbul, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

1997 – 2001 İstanbul, , İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaş Tıp Fakültesi, Genetik A.B.D
Yüksek lisansı.

2001 – 2006 Edirne, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Yüksek lisansı

YAYINLAR ;

Uluslararası Hakemli Dergi Makaleleri:

-Nur Sayhan, Hülya Yazıcı, **Metin Budak**, Ozlem Bitişik, Nejat Dalay
P53 Codon 72 Genotypes In Colon Cancer, Association With Human Papilloma Virus
Infection , -Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology 109,(1,2)
.25 – 33, 2001

-Buyru N, **Budak M**, Yazici H, Dalay N.p53 gene mutations are rare in human
papillomavirus-associated colon cancer. Oncol Rep. 2003 Nov-Dec;10(6):2089-92

T. Sipahi, **M. Budak**, S. Şen, A. Ay. Association between ACE Gene insertion (I) / deletion
(D) polymorphism and primary hypertension in Turkish patients of Trakya Region.
Biotechnol & Biotechnol Eq. 2006. 20; (2); 104 -108

Uluslararası Hakemli Kongre ve Sempozyum Bildirileri:

- Nur Sayhan, **Metin Budak**, Elif Akisik, Ozlem Bitisik, Nejat Dalay, Exon 4 Polymorphism
in the P53 Gene in Colon Cancer ; (Journal of Tumer marker Oncology; Oncology 2000)

- Nejat Dalay, Nur Sayhan, **Metin Budak**, Ozlem Bitisik, Elif Akisik ,P53 Mutations İn
Colon cancer;(Journal of Tumer marker Oncology; Oncology 2000)

