

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

POPULASYONDA ANJİOTENSİN CONVERTİNG ENZİM (ACE)
İNSERSİYON/DELESYON (I/D) GEN POLİMORFİZMİ VE ALLEL
SIKLIĞI

Dr. Malik Ejder YILDIRIM
UZMANLIK TEZİ

SİVAS
2008

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

POPULASYONDA ANJİOTENSİN CONVERTİNG ENZİM (ACE)
İNSERSİYON/DELESYON (I/D) GEN POLİMORFİZMİ VE ALLEL
SIKLIĞI

Dr. Malik Ejder YILDIRIM
UZMANLIK TEZİ

Tez danışmanı : Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

SİVAS
2008

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda "**TIPTA UZMANLIK TEZİ**" olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN :

ÜYE :

ÜYE :

ÜYE :

ÜYE :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../ 2008

DEKAN

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun 12.03.2002 tarih ve 2000/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen Tez Yazım Klavuzu'na göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: T-313).

TEŞEKKÜR

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimi aldığım süreç içerisinde bilgi ve deneyimlerini her zaman benimle paylaşmış olan, tez konumun belirlenmesinde ve çalışmaların yürütülmesinde değerli katkılarını esirgemeyen, sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e, çalışma ve uzmanlık sürecinde desteklerini aldığım sevgili asistan arkadaşlarıma, uzmanlık tezi çalışmaları boyunca laboratuvar çalışmalarına fiilen katılan ve benimle birlikte takip eden sevgili kardeşim, çalışma arkadaşım biolog Binnur KÖKSAL'a, bu süreçte bana emeği geçmiş, diğer anabilim dallarındaki sayın hocalarıma, ihtisas süresince biricik manevi desteğiyle beni ayakta tutan sevgili kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Malik Ejder YILDIRIM

ÖZET

Anjiotensin Konverting Enzim (ACE), başta Renin-Anjiotensin-Aldesteron sistemi (RAAS) olmak üzere bir çok fizyolojik veya metabolik olayda doğrudan ya da dolaylı etkisi olan bir ekzopeptidazdır. Anjiotensin 1'i vazoaktif ve aldesteron stimulan bir peptid olan Anjiotensin 2'ye dönüştürür ve bradikinin'i kinin yıkım ürünlerine parçalar. Anjiotensin 2 ve bradikinin kardiyovasküler sistem üzerine multipl akut ve kronik etkileri olan güçlü vazoaktif moleküllerdir. İlki güçlü bir vazokonstrüktör, ikincisi ise güçlü bir vazodilatatördür. ACE'in bu özellikleri onu hipertansiyonda, kalp yetmezliğinde, tip 2 diabette ve diabetik nefropati tedavisinde ideal bir hedef haline getirmiştir. İki önemli kardiyovasküler hormonal düzenleyici sistem [Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi (RAAS) ve Kallikrein Kinin Sistemi] üzerindeki yaşamsal rolü nedeniyle ACE kardiyovasküler yapı ve fonksiyonda önemli bir etkiye sahiptir. ACE I/D gen polimorfizminin (II, ID, DD) hipertansiyon, kalp yetmezliği, myokardial infarktüs, diabet, diabetik nefropati ve kanser gibi bir çok hastalıkta hastalığın oluşma riski, şiddeti, seyri ve tedaviye yanıtını etkilediğine dair çalışmalar vardır. Bu çalışmada, Sivas ve çevresinde ACE insersiyon/delesyon (I/D) gen polimorfizmi oranlarını ve allel sıklığını belirlemeyi amaçladık.

Test edilen olgularda DD genotipi %32.5, ID genotipi %53.5 ve II genotipi %14 olarak bulundu (D allel frekansı 0.59, I allel frekansı 0.41). Sonuç olarak, Sivas'ta ACE I/D gen polimorfizmi dağılımı ve allel sıklığının Türkiye ve diğer Avrupa ülkeleriyle uyumlu olduğunu tespit ettik.

Anahtar Sözcükler : ACE, İnsersiyon, Delesyon, polimorfizm, RAAS.

ABSTRACT

With its pivotal role in the Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS), Angiotensin Converting Enzyme is an exopeptidase that has an effect in many physiological or metabolic events as a direct or indirect. It catalyzes the conversion of angiotensin I to angiotensin II (vasoactive and aldosterone-stimulating peptide) and the breakdown of bradykinin to kinin degradation products. Angiotensin II and bradykinin are powerful vasoactive molecules with multiple acute and chronic effects on the cardiovascular system. The first is a potent vasoconstrictor and the other is a potent vasodilator. These two actions of ACE make it an ideal target in the treatment of conditions such as high blood pressure, heart failure, diabetic nephropathy and type 2 diabetes mellitus. With its main role in two important cardiovascular hormonal regulatory systems [Renin-Angiotensin Aldosterone System (RAAS) and Kallikrein-Kinin System], ACE has an important impact on cardiovascular structure and function. There are a lot of research and report about the effect of ACE I/D gene polymorphism on risk, prognosis and reaction to treatment of many diseases such as hypertension, heart failure, myocardial infarct, diabetes, diabetic nephropathy and cancer. In this study, we aimed to detect the ranges of ACE I/D gene polymorphism and allele frequencies in Sivas and its peripheral regions.

The DD genotype was found in 32.5%, ID genotype in 53.5%, and II genotype in 14% of the subjects tested. The frequency of D allele was 0.59 and I allele was 0.41. In conclusion, the distribution of ACE I/D polymorphism and allele frequencies in Sivas were not significantly different from Turkey and the other European countries.

Keywords : ACE, Insertion, Deletion, polymorphism, RAAS.

İÇİNDEKİLER**Sayfa No**

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TABLolar	xi
ŞEKİLLER	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Polimorfizm.....	2
2.1.1. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	3
2.1.2. AFLP tekniği.....	4
2.1.3. VNTR (Değişken sayıda ardışık tekrar) analizi.....	5
2.1.4. Mikrosatellitler.....	5
2.1.5. DNA Fingerprinting.....	6
2.1.6. CFLP tekniği.....	7
2.1.7 Single Nükleotid Polimorfizmi (SNP).....	7
2.2. Renin anjiotensin aldosteron sistemi (RAAS).....	8
2.2.1. Renin salınımının düzenlenmesi.....	11
2.2.2. Anjiotensinojen.....	12
2.2.3. Anjiotensin.....	12
2.2.4. Aldosteron.....	15
2.2.5. Doku renin-anjiotensin sistemleri.....	16
2.2.6. Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE).....	16
2.2.7. Anjiotensin dönüştüren enzim 2 (ACE2).....	19
2.3. Hipertansiyon.....	20
2.3.1. Esansiyel Hipertansiyon.....	21

2.3.2. Sekonder hipertansiyon.....	21
2.3.3. Hipertansiyon sınıflandırması.....	22
2.3.4. Genel Nedenler ve belirtiler.....	24
2.3.5. Risk faktörleri.....	24
2.3.6. Klinik hipertansiyonda reninin rolü.....	25
2.4. ACE gen polimorfizmi ile ilişkili temel ve klinik kavramlar ve hastalıklar.....	25
2.4.1. ACE gen polimorfizmi ve hipertansiyon.....	25
2.4.2. ACE gen polimorfizmi ve diyetle sodyum alımı.....	31
2.4.3. ACE gen polimorfizmi ve renal sodyum atılımı.....	32
2.4.4. ACE gen polimorfizmi ve kapiller permeabilite.....	32
2.4.5. ACE gen polimorfizmi ve renal hastalıklar.....	34
2.4.6. ACE gen polimorfizmi ve diabetes mellitus.....	36
2.4.7. ACE gen polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklar.....	38
2.4.8. ACE gen polimorfizmi ve malignite.....	40
2.4.9. ACE gen polimorfizmi ve diğer hastalıklar.....	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	48
3.1. Kullanılan cihaz ve kimyasallar.....	48
3.2. Hasta grubu.....	48
3.3. Kan dokusundan DNA izolasyonu.....	49
3.3.1. DNA izolasyon protokolü.....	51
3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu.....	50
3.5. Agaroz jel elektroforezi.....	51
3.6. Revers-hibridizasyon.....	51
3.6.1. Revers hibridizasyon basamakları ve kullanılan solüsyonlar.....	51
3.7. Striplerin değerlendirilmesi.....	52
3.8. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.....	54
4. BULGULAR.....	55

4.1. Genetik veriler.....	55
4.2. Klinik veriler.....	57
4.3. Genotip-Fenotip ilişkisi.....	60
4.4. Polimorfizm frekanslarının diğer çalışmalarla karşılaştırılması.....	67
5. TARTIŞMA.....	71
6. SONUÇLAR.....	75
7. ÖNERİLER.....	77
8. KAYNAKLAR.....	79
EK 1. ANKET FORMU.....	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE: Anjiotensin Converting(Dönüştüren) Enzim.

ACTH: Adrenokortikotropin hormon.

ADD1: Alfa addusin geni.

AFLP: Amplifiye Fragman Uzunluk Polimorfizmi.

AGT: Anjiotensinojen

APN: Akut piyelonefrit.

ARDS: Adult respiratuar distres sendromu

AT: Anjiotensin.

BMI: Beden-kütle indeksi.

BP: Kan basıncı.

CFLP: Cleavase fragman uzunluk polimorfizmi.

D: Delesyon

DM: Diabetes Melitus.

FSGS: Fokal segmental glomerüloskleroz.

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein.

I: İnsersiyon

IDDM: İnsüline bağımlı diabet.

INS: İdyopatik nefrotik sendrom.

JGA: Juksta glomerüler aparat.

KBY: Kronik böbrek yetmezliği.

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein.

LOH: Lost of heterozigoty (Heterozigotluk kaybı).

MCNS: Minimal change nefrotik sendrom.

MHC: Majör doku uygunluk.

MI: Miyokard İnfarktüsü.

MR: Mineralokortikoid reseptör.

MS: Multipl skleroz.

MSA: Kas yüzey alanı.

NBT: Nitro blue tetrazolium.

PCR: Polimeraz Zincir reaksiyonu.

PIC: Polimorfik bilgi kapsamı.

RAAS: Renin anjiotensin aldosteron sistemi.

RFLP: Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi.

SLE: Sistemik Lupus Eritematosus.

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi.

SPSS: Statical Package for Social Science.

SSc: Sistemik skleroz.

TERalb: Transcapillary escape rate of albumin. (Transkapiller albümin kaybı).

TGF-β1: Tümör growth faktör-β1.

VNTR: Variable number tandem repeat (Değişken sayıda ardışık tekrar).

VUR: Vezikoüreteral reflü.

TABLolarSayfa No

Tablo 2.1. Enaz 18 yaşında olan erişkinlerde kan basıncı sınıflandırması	23
Tablo 4.1. ACE I/D polimorfizmi alel genotiplerinin bireyler arasında dağılımı.....	56
Tablo 4.2. Bireylerin eşey özellikleri ile ACE I/D alel dağılımlarının çapraz tablosu.....	57
Tablo 4.3. Hipertansiyon öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	58
Tablo 4.4. Hipertansiyon aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	58
Tablo 4.5. Kalp hastalığı öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	58
Tablo 4.6. Kalp hastalığı aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	59
Tablo 4.7. Renovasküler hastalık öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	59
Tablo 4.8. Renovasküler hastalık aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	59
Tablo 4.9. Diabet öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	59
Tablo 4.10. Diabet aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	60
Tablo 4.11. Kanser öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	60
Tablo 4.12. Kanser aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.....	60
Tablo4.13. ACE genotipleri ile hipertansiyon olgularının karşılaştırılması.....	61

Tablo 4.14. ACE genotipleri ile hipertansiyon aile öykülerinin karşılaştırılması.....	61
Tablo 4.15. ACE genotipleri ile kalp hastalığı öykülerinin karşılaştırılması.....	62
Tablo 4.16. ACE genotipleri ile kalp hastalığı aile öykülerinin karşılaşması.....	62
Tablo 4.17. ACE genotipi renovasküler hastalık öyküsünün karşılaştırılması.....	63
Tablo 4.18. ACE genotipi renovasküler hastalık aile öyküsü karşılaştırılması.....	63
Tablo 4.19. ACE genotipinin diabet öyküsü ile karşılaştırılması.....	64
Tablo 4.20. ACE genotipinin diabet aile öyküsü ile karşılaştırılması.....	64
Tablo 4.21. ACE genotipinin kanser öyküsü ile karşılaştırılması.....	65
Tablo 4.22. ACE genotipinin kanser aile öyküsü ile karşılaştırılması.....	65
Tablo 4.23. Klinik olgularda ACE genotipinin dağılım oranları.....	70

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 2.1. RFLP markerlarının kalıtımı.....	4
Şekil 2.2. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi.....	9
Şekil 2.3. Anjiyotensin I (sol) ve II (sağ) için space-filling modeli.....	13
Şekil 2.4. Aldosteron.....	16
Şekil 2.5. ACE yapısı.....	16
Şekil 2.6. RAAS ve Kinin-Kallikrein sistemlerinde ACE'nin rolü.....	17
Şekil 2.7. ACE geni diagramı ve I/D polimorfizm bölgesi.....	18
Şekil 2.8. ACE geninin PCR sonucu.....	19
Şekil 2.9. Gen polimorfizmi temelinde ACE aktivitesi.....	20
Şekil 2.10. Genç ve yaşlılarda hipertansiyona ACE genotipinin etkisi.....	30
Şekil 3.1. CVD Strip Assay.....	53
Şekil 4.1. Çalışılan popülasyondaki kadın erkek oranı.....	55
Şekil 4.2. Çalışma grubunun yaşlara göre dağılımı.....	55
Şekil 4.3. Çalışma grubunda ACE I/D polimorfizm oranları.....	56
Şekil 4.4. ACE I/D polimorfizminin eşeylere göre dağılımı.....	57

Şekil 4.5. Çalışma grubunda ACE I/D polimorfizminin sayısal dağılımı.....	66
Şekil 4.6. ACE II genotipli bireylerde hastalıkların dağılımı.....	66
Şekil 4.7. ACE ID genotipli bireylerde hastalıkların dağılımı.....	67
Şekil 4.8. ACE DD genotipli bireylerde hastalıkların dağılımı.....	67
Şekil 4.9. ACE II genotipinin ülkeler arası dağılımı.....	68
Şekil 4.10. ACE ID genotipinin ülkeler arası dağılımı.....	68
Şekil 4.11. ACE DD genotipinin ülkeler arası dağılımı.....	69

1. GİRİŞ

Anjiotensin Converting / Dönüştüren Enzim (ACE) Renin-Anjiotensin-Aldesteron Sisteminin (RAAS) ana unsurlarından biridir ve Agt1'in aldosteron stimulan bir peptid olan Agt2'ye dönüşümünü ve potent bir vazodilatatör olan bradikininin kinin yıkım ürünlerine parçalanmasını katalize eder. AgtII ve bradikinin kardiyovasküler sistem üzerine multipl akut ve kronik etkileri olan güçlü vazoaktif moleküllerdir. İlki potent bir vazokonstrüktör, ikincisi ise güçlü bir vazodilatatördür. ACE'nin bu iki fonksiyonu onu yüksek kan basıncı, kalp yetmezliği, diabetik nefropati, tip 2 DM'un sağaltımında ideal bir hedef durumuna getirmektedir. Geniş enzimatik özgünlüğü ve yaygın dağılımı nedeniyle ACE'nin başka fizyolojik rolleri de olması gerektiği kanısı hakimdir. Çünkü ACE dolaşımında plazma, serebrospinal sıvı, bronkoalveolar ve amniotik sıvı ya da seminal sıvılar gibi biyolojik sıvılarda olduğu kadar endotel hücrelerde ve değişik tip epitelyal ve nöroepitelyal hücrelerde de bulunmaktadır. ACE geni 17q23 bölgesinde yer almakta olup 21 kb uzunluğundadır. ACE geni 287 baz çiftlik Alu repeat sekansta 16 numaralı intronun varlığı (insersiyon formatında) ya da yokluğu (delesyon) zemininde İnsersiyon/Delesyon polimorfizmi ile karakterizedir. Bu durum 3 farklı genotipi ortaya çıkarmaktadır (DD, ID, II). Söz konusu polimorfizmin plazma ACE ve ortalama ACE düzeyi ile güçlü bir ilişkisi bulunmaktadır. ACE gen polimorfizmi allel sıklığı coğrafya ve etnik unsurlara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Söz konusu polimorfizmin bu değişkenliği belli bölgelerde ve toplumlarda yoğunlaşan hastalıklarla olası bağlantısı üzerine özel bir ilgi oluşturmaktadır. Dünya üzerinde ACE gen polimorfizmi ile değişik hastalıklar arasındaki bağlantıyı araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır ve ACE geni I/D polimorfizmi bir çok hastalığın başlangıcı ya da seyri ile ilişkilendirilmektedir. Bu bağlamda biz, Sivas bölgesinde bu genin söz konusu İnsersiyon / Delesyon polimorfizminin rastgele seçilmiş bireyler üzerinde moleküler yöntemler aracılığıyla sıklığını belirlemeyi ve bu bağlamda, bölgemizde söz konusu polimorfizm temelinde, kardiyovasküler hastalıklardan renal patolojilere kadar olası yeni ve alternatif yaklaşımlara bir zemin oluşturmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Polimorfizm

Tek yumurta ikizleri hariç tüm insanlar, DNA' larının içerdiği genetik bilgilerinde küçük fakat önemli farklılıklar taşırlar ki bu farklılıklar herbir bireyi "eşsiz" kılar. Eğer bu varyasyonlar Akdeniz anemisi, ya da fenilketonüri hastalıklarında olduğu gibi doğrudan bir hastalığa yol açıyorsa buna "mutasyon" denir. Mutasyonlar, toplumun %1'inden daha nadir görülen genetik değişikliklerdir. Eğer bir varyasyon toplumun %1'inden daha çoğunda görülüyorsa ve bireyler arasında bir fiziksel farklılık, hastalıklara yatkınlık veya direnç açısından bir farklılık yaratıyorsa buna "polimorfizm" denir. Genetik çeşitliliği ifade eden bu doğal farklılıklar kuşaktan kuşağa Mendel yasalarına göre aktarılırlar. Polimorfizmler doğrudan hastalıklara yol açmazlar. Polimorfizmler, DNA dizilimindeki farklılıkların bir sonucu olmasına karşın, DNA dizilerinin incelenmesinden ziyade, alleller tarafından kodlanan proteinlerdeki değişkenlik incelenerek bir çok polimorfik lokus ortaya çıkarılmıştır. DNA analizlerine oranla, değişik proteinler üzerindeki çalışmalar daha çok bilgi vericidir. Çünkü polimorfik alellerin ürünü olan proteinler, farklı fenotipleri ortaya koymaktadır. Bu nedenle, çevre ile birey arasındaki ilişkiyi, genetik çeşitliliğin nasıl etkilendiğini bize açıklayan proteinlerdeki bu değişimlerdir. İnsan ABO kan grupları, Rh faktörü ve majör doku uygunluk antijenleri birer polimorfizm örnekleridir (1).

Polimorfizmler vücutta değişik süreçlere neden olabilirler, tıpkı bir kelimedede bir harfin değişmesi ile o kelimenin anlamının tamamen değişmesi gibi, mesela "elma"nın "alma" olması gibi. Bu nedenle, genlerdeki varyasyonlar vücuttaki besin öğelerini kullanma ve toksinleri atma yeteneğini etkiler.

Polimorfizm kavramından yola çıkarak, her bireyin genetik olarak kendine özgü bir kimyasal içeriğe sahip olduğu ve bu nedenle çevreye, beslenmeye ve farmakolojik etkilere, kendine özgül cevaplar vereceği sonucuna varabiliriz. Bu biyokimyasal bireysellik olgusu ilk defa yüz yıl önce İngiliz Doktor Sir Archibald Garrod tarafından öngörülmüş olup günümüzde halen geçerliliğini korumaktadır (2).

Polimorfizmler biyolojide ve tıp alanında tiplendirme, teşhis etme ve tanımlama amacıyla değişik laboratuvar koşullarında ve değişik yöntemlerle değerlendirilmektedir. Günümüzde halen, genlerin regülatör bölgelerinde çok sayıda polimorfizm tanımlanmaktadır (3).

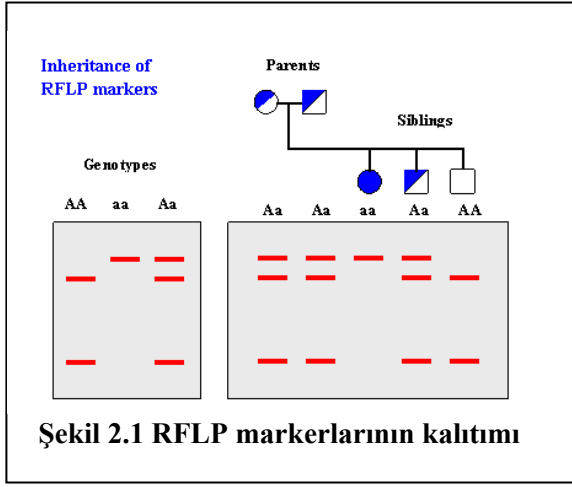
Bir gen bölgesine ait polimorfik yapının ortaya konulmasında yaygın olarak kullanılan moleküler analiz yöntemleri bulunmaktadır. Bazı önemli yöntemleri kısaca açıklamak polimorfizm kavramının derinlemesine algılanabilmesinde yararlı olacaktır.

2.1.1 Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Polimorfizm olgusu, basit bir ifadeyle genlerdeki allelik farklılıkların yansımalarıdır ve bu değişiklikler sıklıkla DNA'da restriksiyon enzimlerinin kesim yapacağı bölgeler oluşturmaktadır. Enzim uygulaması DNA'da farklı uzunlukta fragmanlar ortaya çıkarır. Bunlar elektroforez ile belirlenebilir. Restriksiyon enzimlerinin kullanıldığı bu yönteme "Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi" (RFLP) denilmektedir. Bakteriyel endonükleazların keşfi ile uzun DNA moleküllerini parçalara ayırmak ve bu bağlamda spesifik bölgelerin analizini yapmak mümkün olmuştur (4). İlk RFLP, beta globin gen polimorfizminin belirlenmesinde kullanılmıştır. Kistik fibrozis geni ilk kez sadece RFLP kullanılarak klonlanan gendir. Beta globin geninin RFLP temelinde değerlendirilmesinde *HpaI* enzimi kullanılmıştır. Bazı Afrika topluluklarında tespit edilen bir polimorfizmin özellikle orak hücre anemisi ile birlikte olduğu ileri sürülmüştür.

RFLP analizi için kullanılan başlıca teknikler:

1. Southern Blotting Tekniği
 - a) Radyoaktif
 - b) Non-radyoaktif
2. Polimeraz zincir reaksiyonu ve modifikasyonları
3. SSCP tekniği (Tek Zincir Yapı Polimorfizmi)
4. DNA dizi analizi



RFLP'nin yararları:

1. Kalıtım çalışması için gereklidir.
2. Yapısal heterozigotlugun kaybının incelenmesi (LOH)
3. Doku tiplemesinde/prenatal tanıda/babalık tayininde kullanılabilir.
4. Gen klonlanmasında kullanılabilir.

5. Enfeksiyon ajanlarının (bakteriler, viruslar) birbirlerinden farklılıklarının belirlenebilmesinde kullanılabilir.

2.1.2 AFLP tekniği

Amplifiye fragman uzunluk polimorfizmi (AFLP) polimeraz zincir reaksiyonu temelinde 1990 lı yılların başında Keygene tarafından geliştirilen genetik fingerprint tekniğidir (5). AFLP, restriksiyon fragmanlarının uçlarına komplementer çift zincirli adaptörlerin ligasyonunu takiben genomik DNA'yı kesmek üzere restriksiyon enzimlerini kullanır. Sonrasında restriksiyon fragmanlarının bir alt grubu adaptöre ve restriksiyon bölgesi fragmanlarına komplementer 2 primer kullanılarak amplifiye edilir. Fragmanlar denature poliakrilamid jel üzerinde gerek otoradyografik, gerekse floresan yöntemlerle görüntülenir.

AFLP-PCR, DNA'daki polimorfizmleri belirlemek için yüksek oranda duyarlı bir yöntemdir. Tekniğin prosedürü üç aşama olarak gerçekleşir;

1. Total hücresel DNA'nın bir ya da daha fazla restriksiyon enzimi ile kesilmesi ve restriksiyon fragmanlarının spesifik adaptörlerle ligasyonu.
2. Uygun adaptör ve restriksiyon bölgesi spesifik sekanslarına sahip PCR primerleri ile bu fragmanların bir bölümünün selektif amplifikasyonu.
3. Bant paterninin görüntülenmesini takiben jel matrikste ampikonların elektroforetik

ayrışımı.

AFLP teknolojisi farklı genomik bölgelerdeki değişik polimorfizmleri eş zamanlı olarak belirleme kapasitesine sahiptir. Oldukça duyarlı ve tekrarlanabilen bir yöntemdir. Sonuç olarak, AFLP soylardaki genetik varyasyonların veya yakın ilişkili bitki, fungus, hayvan ve bakteri örneklerinin tanımlanmasında geniş ölçüde kullanılmaktadır. AFLP teknolojisi ayrıca kriminal olaylarda ve babalık testlerinde ve populasyon genetiğinde toplumlardaki küçük farklılıkların belirlenmesinde kullanılmıştır.

2.1.3 VNTR (Değişken sayıda ardışık tekrar) analizi

DNA polimorfizmlerinin ikinci bir şekli, iki RE kesim noktası arasında bulunan, birbiri ardına gelen (Tandem) tekrarlayan (Repeat) sayısı farklı (Variable) DNA dizileridir (VNTR). DSAT (Değişken sayıda ardışık tekrarlayan) diziler 2-60 nükleotid uzunluğunda olup, bir lokustaki allel sayısı 2-20 arasında değişir. Variable number tandem repeat-PCR (VNTR-PCR) mikroorganizmaların moleküler tiplendirilmesi için uygulanabilen bir yöntemdir. Bu metodun, tıbbi mikrobiyolojideki epidemiyolojik çalışmalarda yararlı olduğu kanıtlanmıştır (6). Öte yanda bu yöntem özellikle adli tıp uygulamalarında çok kullanılmaktadır. Ayrıca, prenatal tanıda anne ve bebek örneklerinin karışımını ortaya çıkarmak için de kullanılabilir.

2.1.4 Mikrosatellitler

Mikrosatellitler, bir çok ökaryotik genomda bulunan basit dizilerdir. Mitokondriyel ve nükleer genlerden daha hızlı evrimleşmektedir ve coğrafik ve evrimsel skalada populasyonların gen yapılarının çözümlenmesinde özellikle yararlıdır (7). Bunlar arka arkaya tekrarlanırlar ve sıklıkla rastgele olurlar. Bunlar 1-5 bp uzunluğundadır ve benzersiz (unique) dizi olduklarından kolaylıkla amplifiye edilebilirler. Tekrar sayısı polimorfizm olarak değerlendirilir. Bu polimorfizmi, genetik analizler içinde kullanmak yeterince durağanlık sağlayacaktır. Bu özelliklerinden dolayı, mikrosatellitler, yaygın olarak görülen kalıtsal hastalıklarda, yüksek rezolüsyon genetik haritalarının oluşturulmasında önem taşımaktadırlar. Mikrosatellitlerdeki düşük mutasyon oranı; bunların kalıtım çalışmalarında, hastalık mutasyonlarının

değerlendirilmesinde ve adli tıpta kullanılmasını sağlamaktadır.

Mikrosatellitler Çiftlik hayvanlarında mikro-satellit haritalarının çıkarılması ile üreme- çiftleştirme programları ile verim / büyüme hızı / diğer ticari önemli verimleri artırmak mümkün olabilecektir. Memelilerin mikrosatellitlerinin korunmuş olduğu gösterilmiştir. Yaklaşık sığır ve koyun mikrosatellitlerinin % 50'si; PCR ile çoğaltılmıştır. Sıçan/fare ve insan mikrosatellitleri birbirine benzemektedir. Bunların birbirlerine benzemeleri; insan hastalıklarının sıçan/fare modelinde incelenmesini veya aydınlatılmasını sağlayacak özelliklerdir.

Trinükleotid tekrar uzunluk değişkenliği bazı insan hastalıklarında rol oynamaktadır. (Patojenik mikrosatellitler). Frajil X sendromunda, CGG tekrarı FMR 1 genin ekson 1'inde 52'yi aşarsa; mikrosatellit mayotik olarak anstabil olur ve hasta çocuk oluşur, eğer bu CGG tekrarları daha kısa ise hastalık görülmez. Benzer şekilde androjen reseptörünün 1. eksonundaki CAG motifindeki artış; X'e bağlı geçiş gösteren spinal ve bulbar müsküler atrofiye yol açar. Myotonik distrofide ise, genin 3' untranslated bölgesinde CTG tekrar bölgesinin uzamasına bağlı olarak oluşur. Bu hastalıkların özelliği her yeni kuşakta hastalık ciddiyetinin artma özelliği göstermesidir. Bunun nedeni; tekrarlayan motif uzunluğunun yeni kuşaklarda artış göstermesidir.

Mikrosatellitler kalıtım haritalarının çıkarılmasında, adli tıpta, babalık testinde, kemik iliği transplantlarının takibinde, hastalıklarla bağlantı kurmada ve bazı hastalıkların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.1.5 DNA Fingerprinting

DNA molekülü bitki, hayvan ve mikroorganizmalarda benzer olmasına karşın her türün yapısı birbirinden farklılık arz etmektedir. Bunun nedeni, sekansı yapılan DNA baz çiftlerinin sıralanışıdır. Bu bağlamda yalnız türler arasında değil aynı türün bireyleri arasında da farklılıklar söz konusudur (8). DNA Fingerprinting tekniğinde, minisatellit'ler kullanılmaktadır. Minisatellitler, kromozomlara dağılmış 15-60 baz çiftlik bir kaç yüz sayıda DNA dizileridir. Bu tekrarlayan üniteler, "çekirdek" bir dizi ihtiva etmektedir. Bu "çekirdek" dizilerin çok farklı tipleri vardır. Bu farklı çekirdek dizilerden oluşturulmuş yapılarla çok sayıda "loci" incelemek mümkündür. Çok değişik

hipervariable loci kullanılmaktadır. 10-20 bazlık GC'den zengin bölgeler ve (GATA)₄; (CAC)₅; (TG)₁₂ şeklinde basit dizi tekrarları şeklindedir.

DNA Fingerprinting'de son ürün bir bantlar silsilesidir. Bu otoradyografide bir bar-code şeklindedir. Bu bantların dizilişi, bireye özgüdür. Bu bantlar, mendelyan kalıtsal olarak aktarılır. Bantların yarısı bir ebeveynden gelir. Yüksek oranda, durağandırlar. DNA fingerprinting yöntemi, farklı toplumların arasındaki değişiklikleri incelemekte kullanılabilir. Ancak esas olarak populasyon içi tanımlamalarda, daha yararlı olmaktadır. Genel olarak, bireylerin identifikasyonunda, ebeveyn belirlenmesinde ve gıda teknolojisinde uygulama alanı bulmaktadır.

2.1.6 CFLP tekniği

Cleavase Fragman Uzunluk Polimorfizmi RFLP'nin geliştirilmiş bir başka şeklidir. Prensibi, tek iplikçikli DNA'nın diziye bağlı olarak kıvrımlı yapılar oluşturmasına dayanır. Cleavase I enzimi, bu kıvrımlı yapıları tek iplik- dublex bölgeler arasındaki kesişmelerden kesmektedir. Sonuçta elde edilen parçacıklar denatüran PAGE'de birbirlerinden ayrımlanabilir. İnsanda genotipleme çalışmalarında, bakteriyel viral genotiplemede kullanılabilir.

2.1.7 Single Nükleotid Polimorfizmi (SNP)

DNA sekansındaki gelişmeler populasyonun değişik üyelerinden alınan gen sekans örnekleri aracılığıyla bir genin alelik versiyonlarını değerlendirmeyi kolaylaştırmıştır. Bu bağlamda sekansı yalnız tek bir nükleotid değişimini ortaya koyan aleller tek nükleotid polimorfizmini ifade etmektedir. (Single nucleotide polymorphism = SNPs). SNP'lerin insan sağlığına etkisi günümüz genetik araştırmalarının en can alıcı konularından biridir. SNP verilerinin uygulama alanları:

- Tanı ve risk profillemesi
- Aday gen tayini ve haritalama
- Polimorfizm testleri
- Homogenite testleri ve epidemiyolojik araştırmalar
- Farmakogenomik

- Çevresel uyaranlar, ksenobiotikler ve diyeteye yanıtın öngörülmesi
- Adli genetik

SNP'ler evrimsel açıdan stabildirler. Nesilden nesile çok fazla değişmezler. Bu da onların populasyon çalışmalarında takip edilmelerini kolaylaştırır (2).

SNP'lerin yanı sıra, delesyon/insersiyon adı verilen polimorfizmler de bulunmaktadır. Bu polimorfizmlerde genin bir kısmı veya tamamının bulunmaması söz konusudur. Bu durumda genin kayıp bölgesinin olduğu versiyonuna 'delesyon', ilgili gen bölgesinin var olduğu formuna ise 'insersiyon' adı verilmektedir.

Polimorfizmlerin varlığı, insan türünün doğal bir özelliğidir. Bugün artık ülkemizde de analiz edilebilen bazı varyasyonlar da, kişinin beslenme alışkanlıklarıyla ve yaşam biçimiyle etkileşerek sağlığını etkileyen ancak kendi başlarına bir hastalığa neden olmayan varyasyonlardır. Aslında bazıları belirli süreçlerde ortalama bir işlevden daha iyisini sağlayabilirler.

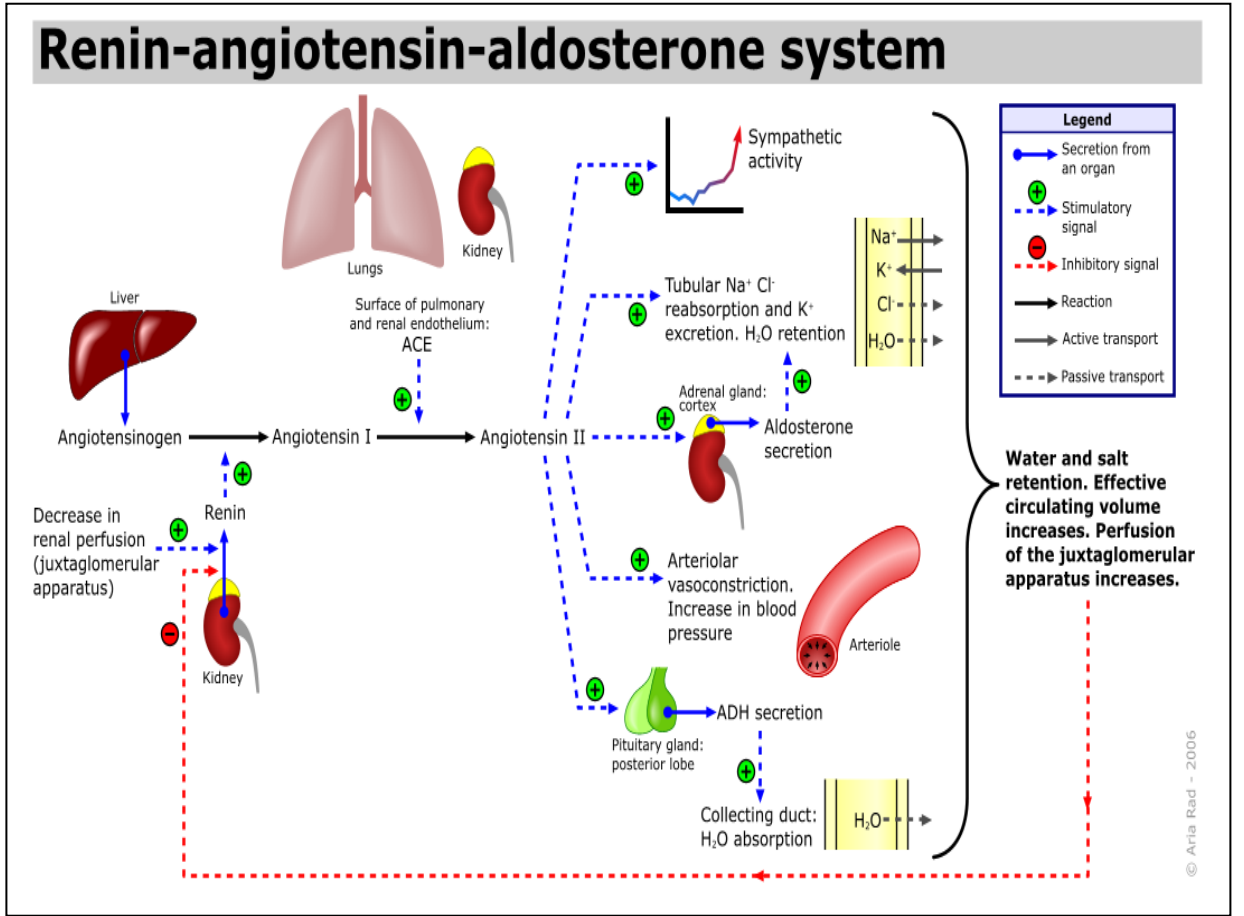
Bir çok protein polimorfizmleri proteinin değişik versiyonlarını belirlemek üzere antikorların kullanıldığı seroloji yöntemi ya da aminoasitlerin proteinlerin elektrik yükü üzerine etkilerindeki farklılıklar nedeniyle elektroforez yöntemiyle belirlenebilir.

Enzim yapıları sıklıkla polimorfiktir. Bir populasyon tek bir loküs tarafından kodlanan bir enzimin iki ya da daha fazla varyantını içerebilir. Bu varyantlar aminoasit dizilerinde hafif farklılıklar gösterir ve bu durum elektroforez sırasında farklı migrasyona neden olur. Populasyonda görülen elektroforetik enzim varyantlarına "allozim" adı verilmektedir.

2.2 Renin-Anjiotensin Aldosteron Sistemi (RAAS)

Bedenin su ve elektrolit dengesi ve bu zeminde kardiyovasküler dolaşımın ve sistemlerin aktivitesi ve sürdürülebilirliği, santral sinir sisteminde hipofizden böbreklere değin çok sayıda organı ilgilendiren karmaşık bir mekanizmadır. Bu düzeneğin temel unsurlarının başında Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi (RAAS) gelmektedir. Bu sistem sıvı elektrolit dengesinin, dolaşım volümünün ve arteryel kan basıncının düzenlenmesinde ve fizyolojik düzeylerde devamının sağlanmasında temel görevler yüklenmiştir. Renin anjiotensin aldosteron sistemi (RAAS) bedende uzun dönem kan

basıncını ve hücre dışı volümü regüle eden hormonal bir sistemdir (9). Böbrekte jukstaglomerular aparatın granüler hücrelerinden salınan renin, hipotansiyon vb nedenlerle böbrek perfüzyonu düştüğünde ya da makula densaya ulaşan Na azaldığında karaciğer kaynaklı anjiotensinojeni anjiotensin 1'e dönüştürür. Anjiotensin 1, başlıca akciğerlerin yüzeyi ve böbrek endotelyumundan salınan ACE (Anjiotensin dönüştürücü enzim) aracılığı ile Anjiotensin 2'ye dönüştürülür. Agt2 etkisini kendisine ait 2 reseptöre bağlanarak gösterir. Bu etkiler arteriolar vazokonstrüksiyon ve kan basıncının artması, antinatriüretik etki (Na retansiyonu), trofik etki(büyüme faktörü) ve susama hissinin uyarılmasıdır (dipsojenik etki). Ayrıca sürrenal korteksten aldosteron salınımını sağlayarak sonuçta su retansiyonuna yol açar (10, 11). Sistem, kanın volüm kaybında ve kan basıncında düşme olması durumunda aktifleşir.



Şekil 2.2 Renin-anjiotensin-aldosteron sistemi (Wikimedia Commons)

Böbrek özütleri ve kan dolaşımında bulunan renin, düşük kan volümüne ve hızlı prostaglandin salınımı ile ilgili olarak azalmış serum NaCl konsantrasyonuna yanıt olarak böbreklerdeki juxtaglomeruler aparatdaki juxtaglomeruler hücrelerden salınır. Bu epitelooid hücreler afferent arteriollerin glomerüllere giren kısmında bulunur. Bu hücrelerde, bir zarla sarılı salgı granüllerinin renin içerdikleri gösterilmiştir. Renin, ayrıca afferent ve efferent arteriollerin temas noktalarında yer alan, granülsüz lacis hücrelerinde de bulunmuştur. Ancak bu yerleşimin anlamı bilinmemektedir.

Glomerüle afferent arteriolün girip efferent arteriolün çıktığı noktada, nefronun tubülü, ait olduğu bu glomerülün arteriollerine temas eder. Distal kıvrımlaşmanın başlangıcını işaret eden bu noktada, tubül epitelinin değişime uğramış bir bölgesi yer almakta olup bu bölgeye makula densa denir. Makula JG hücrelere çok yakın konumdadır. JG hücreleri, lacis hücreleri ve makula densadan oluşan birime juxtaglomeruler apparatus denir.

Böbreklerdeki juxtaglomerular aparatın perfüzyonu azaldığında akabinde böbrek glomeruler yapıda afferent arteriyollerin duvarında özelleşmiş juxtaglomerular hücreler renin adlı enzimi salgılar. Bu hücreler anatomik ve fonksiyonel olarak distal kıvrımlı tüpler (macula densa) duvarındaki hücrelerle ilişkilidir. Renin salınımı bir kaskad sistemini aktive eder ve hepatic a₂-globulin olan anjiotensinojenden dekaeptid anjiotensin I oluşumunu tetikler.

1. Renin anjiotensinojen adı verilen inaktif bir peptidi parçalayarak anjiotensin I oluşumunu sağlar.
2. Anjiotensin I başlıca akciğer kapillerinde bulunan anjiotensin-converting enzim aracılığıyla anjiotensin II'ye dönüşür.
3. Anjiotensin II renin-anjiotensin sisteminin majör biyoaktif ürünüdür. Anjiotensin II bir endokrin,otokrin,parakrin ve intrakrin hormon gibi davranır.

Bir asit proteaz (Aspartil proteaz) olan renin ayrıca anjiotensinojenaz olarak da bilinen ve anjiotensinojenden anjiotensin I üreterek renin-anjiotensin sistemini aktive eden bir dolaşım enzimidir. Glikoprotein doğasında bir hormon olarak da

değerlendirilen reninin molekül ağırlığı insanda 37.326 daltondur. Gen loküsü 1 nolu kromozomun uzun koludur (1q32). Renin geni 12 kb lık bir DNA ve 8 intronu kapsamaktadır. Renin geninin yapısı pepsinojenle benzerdir. Bu durum iki molekülün ortak bir evrimsel kökenden kaynaklandığını göstermektedir. Önce bir preprohormon olarak sentezlenir. İnsan preprorenini 406 aminoasit kalıtı içerir. Amino ucundan 23 aminoasitlik bir öncü dizinin koparılması ile 383 aminoasitlik prorenin oluşur ve sonrasında proreninin amino ucundan 43 aminoasit uzaklaşarak 340 aminoasit içeren etkin renin ortaya çıkar. Proreninin biyolojik etkinliği yok denecek kadar azdır. Etkin renin formu esas olarak böbreklerin bir ürünüdür. Dolaşımdaki yarı ömrü 80 dakikayı geçmez. Hormon benzeri etkisine rağmen hücrel hedefler üzerine çalışmaktan ziyade dolaşımdaki bir protein prekürsörünü parçalamaktadır. Bu nedenle gerçekte bir hormon değildir. Juxtaglomerüler apparatus hücrelerinde membran $\beta 1$ ve $\alpha 1$ -adrenerejik reseptörlerin sempatik aktivasyonu muhtemelen tubuler sodyum içeriğini veya makula densanın çalışmasını değiştirerek ayrıca renin salınımına neden olur. Erişkin insan plazmasındaki normal konsantrasyonu vertikal pozisyonda 1.98-24.6 ng/L dir.

2.2.1 Renin salınımının düzenlenmesi

Renin salınımını çeşitli etmenler düzenler. Ve her hangi bir andaki renin salınım hızı, bu etmenlerin toplam etkinliği tarafından belirlenir. Bu etmenlerden biri, böbreklerdeki baroreseptör mekanizmasıdır. Bu mekanizma, renin salınımını, arterioller basınç, JG hücre düzeyinde düştüğünde uyarırken, bu basıncın artması halinde salınımı azaltır. Renin salınımının düzenlenmesine katılan bir diğer algılayıcı makula densadır. Renin salınımı, tubülün bu kısmındaki Na ve Cl taşıma hızı ile ters orantılıdır. Taşıma hızı yalnızca makula densa hücrelerindeki mekanizmalara değil, aynı zamanda makula densaya ulaşan elektrolit derişimlerine de bağımlıdır. Dolayısıyla distal tubüllere aktarılacak Na ve Cl miktarının azalması renin salınımını artırır. Prostaglandinler, özellikle de prostasiklin, renin salınımını JG hücrelere doğrudan etki ile uyarır. Makula densanın, renin salgılanması üzerine olan etkisinin NO aracılığıyla geliştiğini düşündüren bulgular vardır. Serum K derişimi ile renin salınımı arasında ters bir ilişki

gözükmekle birlikte K'un etkisine, bunun makula densaya sunulan Na ve Cl miktarında yaptığı değişiklikler aracılık etmektedir.

Anjiotensin II, jukstaglomerüler hücrelere doğrudan etki ile renin salınımını geri bildirimli şekilde inhibe eder. Vazopressin de renin salınımını *invivo* ve *invitro* olarak inhibe eder. Bu *invivo* etkinin doğrudan veya dolaylı olup olmadığı tartışmalıdır.

Son olarak, sempatik etkinliğin artması da renin salınımını artırır. Bu artışa hem dolaşımdaki katekolamin miktarının artışı, hem postganglionik renal sempatik sinirlerden salınan noradrenalin aracılık eder. Katekolaminler, esas olarak JG hücre zarındaki beta1 adrenerjik reseptör üzerine etki yapar ve renindeki artışa, artmış hücre içi cAMP aracılık eder.

İnsanda artmış renin salınımı ile birlikte olan tabloların çoğu santral venöz basıncı azaltır ve bu da renal arterioler basınçta potansiyel bir azalma ile birlikte sempatik etkinlikte artışı da tetikler. Renal arterlerin ve renal arterlerin proksimalindeki aortanın daralması renal arteriolar basınçta azalmaya neden olur. Psikolojik uyarılar renal sinirlerin etkinliğini artırır.

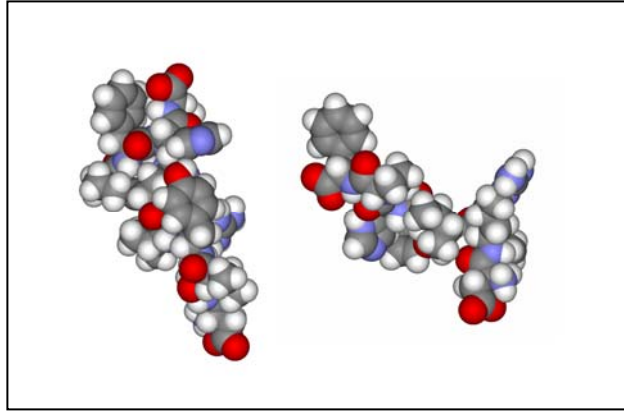
2.2.2 Anjiotensinojen

Başlıca karaciğerde üretilen ve dolaşıma salınan bir α -2-globulindir. Serpin ailesinin bir üyesidir. Angiotensinojen geni 5 ekzon içerir. Alfa 1 antitripsin (AAT) ile identik bir organizasyona sahiptir. Yaklaşık %13 karbonhidrat içerir ve 453 aminoasit kalıtından yapılmıştır. Glikokortikoidler, tiroid hormonları, östrojenler, sitokinler ve anjiotensin II dolaşımdaki düzeyini yükseltir. Plasma angiotensinojen düzeyleri kortikosteroidler, östrojen, tiroid hormonları ve anjiotensin II düzeyleri ile bağlantılı olarak değişkenlik gösterir. Son dönemlerde yapılan değişik çalışmalar insanlarda adipöz dokunun da anjiotensinojen ve renin ve nonrenin anjiotensin sistem enzimleri eksprese ettiğini ortaya çıkarmıştır.

2.2.3 Anjiotensin

Vazokonstriksiyon, artmış kan basıncı ve adrenal korteksten aldosteron salınımına neden olan bir oligopeptiddir. (9). Güçlü bir dipsojendir. Anjiotensinojen kaynaklı,

karaciğerde üretilen bir serum globulindir. Renin-anjiotensin sisteminin ana unsurlarından biridir. İlk olarak Cleveland Kliniği'nde üretilmiştir. Gen loküsü 1q42-q43.



Şekil 2.3 Anjiotensin I (sol) ve II (sağ) için space-filling modeli. (Wikimedia commons)

Anjiotensin I minör bir aktiviteye sahiptir. Fakat anjiotensin II daha potanttır ve beden üzerinde değişik etkileri vardır. Öncelikle organizma için potent bir vazokonstriktördür. Böbreklerde glomeruler arteriyolları büzer. Afferent arteriyollerden ziyade efferent arteriyoller üzerinde etkisi daha fazladır. Bedendeki diğer kapillerlerde efferent arteriyollerin konstriksiyonu arterioler rezistansı artırır. Bu da sistemik arteriyel kan basıncını yükseltip kan akımını azaltır. Bununla birlikte böbrekler kan akımındaki düşmeye rağmen yeterli miktarda kanı filtre etmeyi sürdürmelidir. Dolayısıyla glomerular kan basıncını korumak için bazı mekanizmalar devreye girer. Anjiotensin II glomerüllere kan akımını sağlayan efferent arteriyolları büzerek glomerüler basıncı artırır. Böylelikle glomerüler filtrasyon oranı korunur ve düşük böbrek kan akımına rağmen kan filtrasyonu sürebilir.

**Angiotensin I* : *Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*

**Angiotensin II* : *Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe | His-Leu*

**Angiotensin III* : *Asp | Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe*

Anjiotensin III anjiotensin II nin vazopressör etkisinin % 40'ına aldosteron salınımını

uyarıcı etkisinin ise % 100'üne sahiptir.

**Angiotensin IV : Arg / Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe*

Angiotensin IV anjiotensin III gibi bir heksapeptiddir. Aktivitesi düşüktür. Anjiotensin II adrenal kortekste aldosteron salınımına neden olur.

Angiotensin II'nin afferent ve özellikle efferent arteriolde daralma ile intraglomeruler basıncı ve filtrasyonu artırmak ve renal tübüller üzerine doğrudan etki ile Na geri emilimini artırmak biçimindeki hemodinamik etkilerinin yanında glomeruler kapiller bariyerin selektivite kaybına ve proteinüriye neden olma, renal hücre büyümesini kolaylaştırarak tubulointerstisyel hasara katkıda bulunma, angiotensin II tip 1 reseptör aracılığıyla tubuler hücrelerde hipertrofi ve kollajen tip IV sentezinde artış meydana getirme, TGF- β 1 sentezini artırarak tubuler hücrelerin başkalaşmasını sağlayıp tubulointerstisyel yapıyı bozma, plasminojen aktivatör inhibitör-1(PAI-1) üretimini uyarak ekstraselluler matriks birikimini artırma, makrofaj aktivasyonu ve fagositozu uyarak kronik renal hasarla ilişkili inflamasyonu artırma ve interstisyel fibrozise neden olma gibi nonhemodinamik etkileri de vardır.

Anjiotensin II beyinde de etkilidir. Barorefleksin duyarlılığını azaltır. Bu olay anjiotensin II nin pressör etkisini potansiyalize eder. Aldosteron aracılığıyla beyni etkileyip su alımını artırmasının yanı sıra vazopressin ve ACTH salınımını da artırır. Aslında kan beyin engelini aşmamaktadır ama kan beyin engeli dışında kalan dört küçük sirküventriküler organı etkileyerek bu yanıtları tetikler. Bu organlardan area postrema özellikle pressör etkiden, diğer ikisi yani subfornikal organ ve lamina terminalisin organum vazkülozumu sıvı alımının artışından (dipsojenik etki) sorumludur. Sirküventriküler organlardan hangilerinin vazopressin ve ACTH salınımındaki artıştan sorumlu olduğu tam olarak bilinmemektedir.

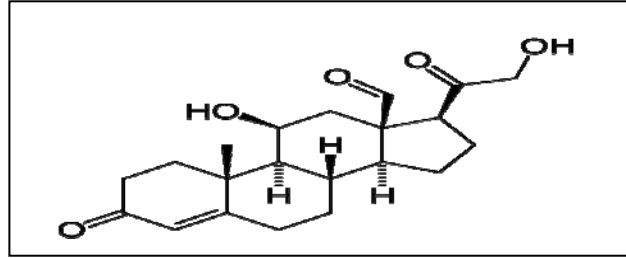
En az iki tip anjiotensin II reseptörü vardır. AT1 reseptörleri bir G proteini (Gq) ile fosfolipaz C'ye kenetlenmiş petek reseptörlerdir ve anjiotensin II stoplazma serbest Ca düzeyini artırır. Bu durum çok sayıda tirozin kinazları da aktiveleştirir. Damar düz kaslarındaki AT1 reseptörleri kaveolinler ile ilgilidir ve anjiotensin II üç kaveolin türü proteinden biri olan kaveolin-1 in yapımını artırır. İnsanda 3. kromozom üzerinde bir AT1 reseptör geni vardır. AT2 reseptörü ise X kromozomu üzerindeki bir gen

tarafından kodlanır. AT1 reseptörleri gibi AT2 reseptörlerinin de çeşitli transmembran domainleri vardır, fakat etkileri farklıdır. Bunlar, çeşitli fosfatazları etkinleştirmek üzere G proteinleri aracılığıyla etki yapar ve bu fosfatazlar da daha sonra büyütücü etkileri baskılar ve K kanallarını açar. AT2 reseptörlerinin etkinleşmesi sonucunda ayrıca NO üretimi ve dolayısıyla hücre içi cGMP artar. Ancak bu ikinci haberci etkilerinin genel fizyolojik sonuçları net olarak anlaşılamamıştır. AT2 reseptörleri fetus ve yeni doğanda çok bol olsa bile erişkinde yalnızca beyin ve diğer bazı organlarda kısmen yer alır.

Arteriyoller ve böbrek üstü bezi kabuğunda bulunan AT1 reseptörleri birbirileri ile zıt yönde düzenlenir. Anjiotensin II yüksekliği damarlardaki reseptör sayısını azaltırken (down regülasyon), böbrek üstü bezindeki reseptör sayısını artırır. (Up regülasyon). Bu durum bezi, peptidin aldosteron uyarıcı etkisine karşı daha duyarlı kılar.

2.2.4 Aldosteron

Adrenal bezdeki adrenal korteksin dış kısmında (zona glomeruloza) üretilen, kanda sodyum ve potasyum dengesini düzenleyen bir steroid hormondur (12). Aldosteron sentaz enzimi tarafından kolesterolden sentezlenir. Mineralokortikoidler sınıfının tek endojen üyesidir. Aldosteron böbrekte primer olarak distal kıvrımlı tubuller ve kortikal toplayıcı kanallar gibi tubuler yapılar üzerinde etkilidir. İdrardan daha fazla sodyum ve su geri emilimine neden olur. Potasyum geri emilen sodyum ile değiş tokuş halinde tubule sekrete edilir. Aldosteron, böbreğin toplayıcı kanallarındaki hücrelerde bulunan mineralokortikoid reseptörlerine (MR) bağlanıp bu hücrelerin lümen tarafındaki (apikal) zarlarının sodyum ve potasyum geçirgenliğini artırır ve bazolateral zarlarında bulunan Na⁺/K⁺ pompaları aktive ederek ATP üretimini harekete geçirir. Sonuç olarak su ve sodyumun tekrar kana geçmesini, potasyumun da idrara geçmesini sağlar. Aldosteron ayrıca toplayıcı kanallardaki α -interkalar hücrelerden H⁺ salgılanmasını uyarak plazma bikarbonat düzeylerini ve dolayısıyla onun pH'sini düzenler. Aldosteron, böbrek tarafından süzülen sodyumun % 2'sinin tekrar kana geçmesinden sorumludur. Bu miktar, normal glomerüler filtrasyon hızında kandaki sodyumun tamamına karşılık gelir. Aldosteron ayrıca santral sinir sisteminde bir kişinin tuza ihtiyacını artırmada ve susuzluk hissini oluşumunda rol oynar.

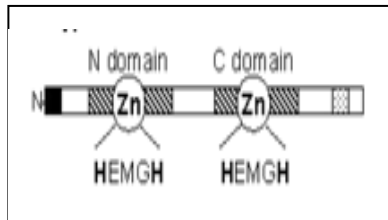


Şekil 2.4 Aldosteron (Wikimedia commons)

2.2.5 Doku renin-anjiotensin sistemleri

Dolaşımdaki anjiotensin II'yi üreten sisteme ek olarak, çeşitli dokularda yerel kullanım için anjiotensin II üreten bağımsız renin-anjiotensin sistemleri vardır. Kan damarları, uterus, plasenta ve fetal zarlarda renin-anjiotensin sisteminin çeşitli unsurlarının varlığı bildirilmiştir. Amniyon sıvısında yüksek miktarda prorenin bulunur. Ayrıca işlevleri tam olarak bilinmemekle birlikte, gözler, ekzokrin pankreas, kalp, yağ dokusu, böbrek üstü bezi, testisler, overler, hipofizin ön ve ara lobları, beyin ve epifizde de doku renin-anjiotensin sistemleri ya da bu sistemlere ait bazı elemanlar bulunur. Ancak anjiotensin II'nin kalp ve kan damarları için önemli bir büyüme faktörü olduğuna dair bulgular giderek artmaktadır (10). Doku renininin dolaşımdaki renin miktarına katkısı çok azdır. Zira plazma renin etkinliği, böbrekler çıkarıldıktan sonra hemen hemen sıfıra düşer.

2.2.6 Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE)

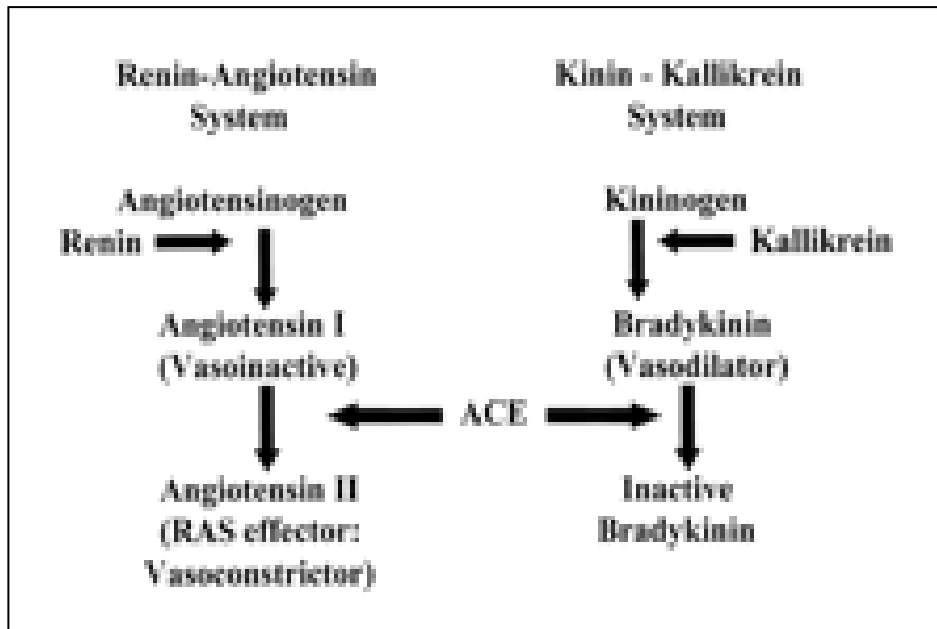


Şekil 2.5 ACE yapısı. Protein 2 homolog domain ve çinkoya bağlanan HEMG proteinini içeren 2 katalitik bölgeden oluşmaktadır (10).

Renin-Anjiotensin-Aldesteron Sisteminin (RAAS) ana unsurlarından olan Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ACE), peptidil dipeptidaz A, karboksikatepsin, kininaz II, CD 143 ve ACE1 olarak da adlandırılan bir çinko metallopeptidazdır (13). Agt1'in

aldosteron stimulan bir peptid olan Agt2'ye dönüşümünü ve potent bir vazodilatator olan bradikininin kinin yıkım ürünlerine parçalanmasını katalize eder.

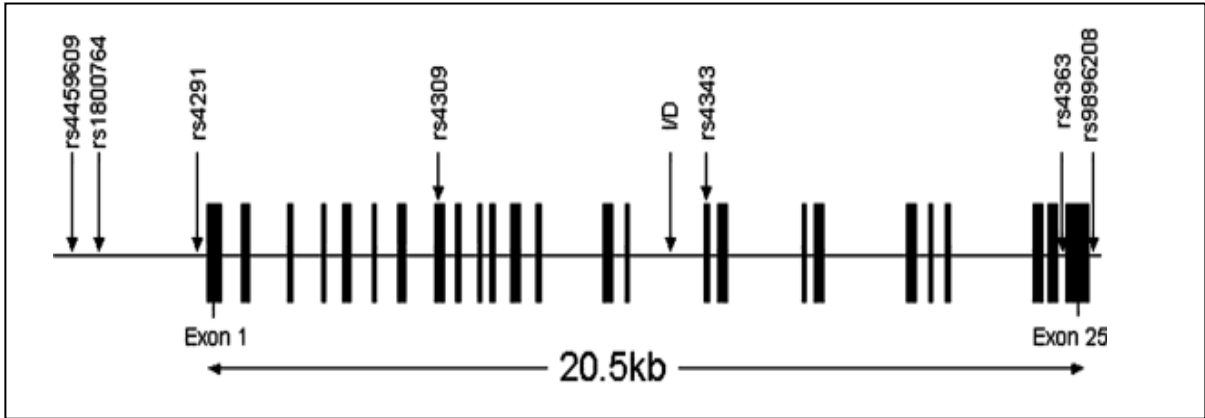
AgtII ve bradikinin kardiyovazküler sistem üzerine çoklu akut ve kronik etkileri olan güçlü vazoaaktif moleküllerdir. İlki potent bir vazokonstrüktör, ikincisi ise güçlü bir vazodilatatördür. ACE'nin bu iki fonksiyonu onu yüksek kan basıncı, kalp yetmezliği, diabetik nefropati, tip 2 DM'un sağaltımında ideal bir hedef durumuna getirmektedir (14). Geniş enzimatik özgünlüğü ve yaygın dağılımı nedeniyle ACE'nin başka fizyolojik rolleri de olması gerektiği kanısı hakimdir. Çünkü ACE dolaşımında plazma, serebrospinal sıvı, bronkoalveolar ve amniotik sıvı ya da seminal sıvılar gibi biyolojik sıvılarda olduğu kadar endotel hücrelerde ve değişik tip epitelyal ve nöroepitelyal hücrelerde de bulunmaktadır.



Şekil 2.6 RAAS ve Kinin-Kallikrein sistemlerinde ACE'nin rolü (14).

Serum ACE konsantrasyonu erkek ve kadınlarda büyük farklılıklar içermez ve sistolik ya da diastolik kan basıncı ya da beden-kütle indeksi (BMI) ile belirgin bir korelasyon göstermez. ACE geni 17q23 bölgesinde lokalizedir. Gen 26 ekzona ve 25 introna sahiptir ve 21 kb uzunluğundadır. Plazma ACE düzeyleri zaman içinde sabittir

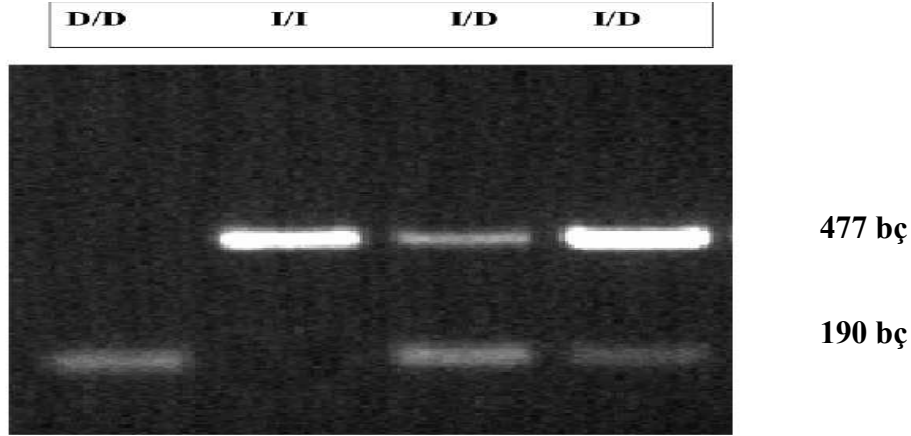
ancak bireyler arasında belirgin değişiklik gösterir. ACE geni iki izozimi kodlamaktadır. Bunlardan biri gen duplikasyonu yoluyla oluşan ve primer olarak vazküler endotelial hücreler, epitelyal böbrek hücreleri ve testiküler Leydig hücreleri gibi bir çok dokudaki endotelial hücrelerde eksprese edilen somatik ACE, diğeri ise erkek reproduktif sistemde daha basit bir genden transkripsiyon yoluyla elde edilen ve yalnızca spermelerde eksprese edilen germinatif ya da testiküler ACE'dir (10). Her iki ACE'nin tek bir transmembran domeni ve kısa bir stoplazmik kuyruğu vardır. Somatik ACE 170 kDa'luk bir protein olup her biri etkin bir bölge taşıyan iki tane homolog hücre dışı domeni varken germinal ACE yalnız bir tane hücre dışı domeni ve bir tane etkin bölge içeren 90 kDa'luk bir proteindir. Her iki enzim de aynı gen bölgesi tarafından eksprese edilir. Öte yandan, bu genin iki farklı mRNA üreten iki farklı promotörü vardır. ACE geni devre dışı bırakılan erkek farelerde kan basıncı normalin altına düşerken diőı farelerde bu olay görülmez. ACE geni 287 baz çiftlik *Alu* repeat sekansta 16 numaralı intronun varlığı (insersiyon formatında) ya da yokluğu (delesyon zemininde) insersiyon/delesyon polimorfizmi ile karakterizedir. Bu durum DD, ID ve II olmak üzere 3 farklı genotipi ortaya çıkarmaktadır. Söz konusu polimorfizmin plazma ACE ve ortalama ACE düzeyi ile güçlü bir bağlantısı bulunmaktadır. Allel tipi enzim aktivitesini etkilemektedir ve en yüksek aktivite DD genotipinde en düşük II genotipinde görülmektedir (14).



Şekil 2.7 ACE geni diagramı ve I/D polimorfizm bölgesi (15).

ACE serum düzeyleri hipertansif olgularda normotansiflere oranla belirgin

biçimde yüksektir. Ayrıca hipertansif olgularda ACE ile kan basıncı arasında ılımlı bir korelasyon göze çarpmaktadır. Bu veriler ACE DD genotipinin şiddetli hipertansiflerde ve pozitif aile öyküsü olan olgularda predispozan bir etkiye sahip olduğunu bu bağlamda da ACE'nin hipertansiyon için bağımsız faktörlerden biri olabileceğini düşündürmektedir (16).



Şekil 2.8 ACE geninin 16 numaralı intronundaki polimorfik bölgenin amplifikasyon temelinde PCR sonucu. ID bandı 477 ve 190 bp lik fragmanlarıyla ID heterozigotesini göstermektedir. II bandı 477 bp lik insersiyon homozigotesini, DD bandı ise 190 bp lik delesyon homozigotesini ifade etmektedir (17).

ACE geni iki izozimi kodlamaktadır:

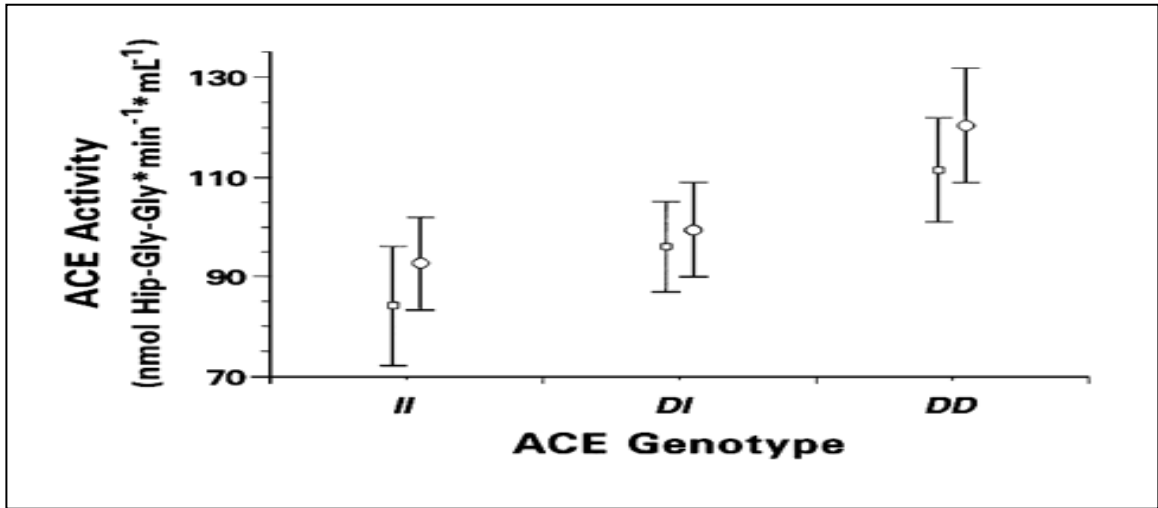
1-Somatik ACE: Gen duplikasyonu ile oluşan ve primer olarak vazküler endotel, böbrek hücreleri ve testiküler leydig hücreleri olmak üzere endotelyal hücrelerde eksprese olan form.

2-Germinatif(Testiküler) ACE: Erkek üreme sisteminde yalnız sperm hücrelerinde eksprese olan form.

2.2.7 Anjiotensin Dönüştüren Enzim 2 (ACE2)

Temel olarak bu enzim tipi testis, böbrek ve kalp başta olmak üzere değişik dokularda tanımlanmıştır. ACE1 ile aynı bölgeleri paylaşmakta, %40 homoloji göstermektedir. Substrat özgünlüğü ACE1'den farklıdır ve aktivitesi ACE inhibitörleri

ile değişiklik göstermez. Ang1 ve Ang2'den Ang(1-9) ve Ang(1-7) degradasyon fragmanlarının oluşumunu katalize eder. Gen lokalizasyonu Xp22'dir. Proksimal tubuler hücrelerden Ang-(1-7) salınımı AngII'nin etkisini bloke ederek koruyucu ve düzenleyici bir rol oynar (18).



Şekil 2.9 Gen polimorfizmi temelinde ACE aktivitesi (19)

2.3 Hipertansiyon

Etyopatogenezi oldukça karışık olan hipertansiyonun, genetik bir alt yapının varlığında, çevresel faktörlerin etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Gen mutasyonları, aşırı tuz tüketimi, sigara, obezite, sedanter yaşam, aşırı alkol kullanımı, düşük doğum ağırlığı, kurşun zehirlenmesi, potasyum yönünden yetersiz beslenme, stres, bozulmuş glikoz toleransı ve insülin direnci tek başına veya sinerjistik etki göstererek hipertansiyona neden olabilirler.

Hipertansiyon tek başına bir hastalık olmaktan çok, bir risk faktörü olarak kabul edilen arteryel kan basıncı yüksekliğinin devamlılık halidir. Arteryel hipertansiyon, arter kan basıncının yükselmesidir.

2.3.1 Esansiyel hipertansiyon

Hipertansiyon olgularının %95'ini oluşturur. Renal işlev bozukluklarının zemininde geliştiği düşünülmektedir. Genetik olarak hipertansiyona daha fazla yatkın olan kişilerdeki en olası renal sorunların, sodyum ve su atılımını yeterince gerçekleştirememek ve/veya kan akımına aşırı direnç göstermek olduğu düşünülmeye başlanmıştır.

2.3.2 Sekonder hipertansiyon

Olguların %5 bölümünü oluşturur.

*Renal

*Endokrin

*Arteriyel

*İlaçlara bağlı

*Diğer

1) Renal nedenler:

Renal vazküler hastalıklar

a.Renal arter stenozu

b.Renal arter anevrizması

c.Renal arter embolisi

d.İntrarenal vazkülit

Renal parenkimal hastalıklar

a.Polikistik böbrek hastalığı

b.Kronik glomerülonefrit

c.Diyabetik nefropati

d.Kronik pyelonefrit

e.Akut glomerülonefrit

2)Endokrin nedenler

a.Feokromasitoma

b.Cushing Sendromu

c.Akromegali

- d.Hipo-hipertiroidi
- e.Hiperparatiroidizm
- f.Mineralokortikoid fazlalığı ile seyreden durumlar
 - Primer hiperaldosteronizm
 - Renin sekrete eden tümörler
 - C-11 ya da C-17 hidroksilaz eksikliği

3)Arteriyel nedenler

- a.Renal vazküler hastalıklar
- b.Vazkültler
- c.Aort koarktasyonu

4)İlaçlara bağlı

- a.Oral kontraseptifler
- b.NSAID
- c.Kortikosteroidler
- d.MAO inhibitörleri
- e.Siklosporin
- f.Ergot alkaloidleri

5)Diğer

- a.Preeklampsi
- b.Nörolojik hastalıklar

2.3.3 Hipertansiyon Sınıflandırması

Kan basıncının normal sınırları sempatik aktivite, pozisyon farkı, vücut sıvı volümü, iskelet kas tonusu gibi fizyolojik şartlarda çok değişkendir. Klinikte ya da muayenehanede yapılan, devamlı kan basıncı ölçümlerinin standard kontrollü çalışmalarının sonuçlarına göre pratik bir hipertansiyon sınıflandırması aşağıda gösterilmiştir:

Tablo 2.1 En az 18 yaşında olan erişkinlerde kan basıncı sınıflandırması

Kategori	Kan basıncı mmHg		Hipertansiyon
	<u>Sistolik</u>	<u>Diastolik</u>	
Optimal	<120	< 80	-
Normal	<130	< 85	-
Normal-yüksek	130-139	85-89	-
Yüksek	140-159	90-99	Evre 1
Yüksek	160-179	100-109	Evre 2
Yüksek	\geq 180	\geq 110	Evre 3

JNCVI. Raporuna göre hipertansiyon sınıflandırılması

Hipertansiyon aynı zamanda hedef organ hasarının varlığı ve derecesi ile de sınıflandırılabilir:

EVRE I: Organ değişikliklerinin objektif belirtilerinin olmaması

EVRE II: Organ tutulumunu gösteren aşağıdaki belirtilerin en az bir tanesinin varlığı: LVH (grafi, elektrokardiyografi, ekokardiyografi).

Retinal arterlerin fokal ya da genel olarak daralması.

Proteinüri ve/veya plazma kreatinin konsantrasyonunun hafif yükselmesi (1.2-2.0 mg/dl)

Aterosklerotik plakların ultrasonografik ya da radyolojik olarak ortaya konması (karotis arterleri, aorta, ilyak ve femoral arterler).

EVRE III: Organ hasarına bağlı olarak belirti ve semptomlar ortaya çıkmıştır. Bu durum şunları içerir:

Kalp: angina pectoris, MI, kalp yetmezliği

Beyin: geçici iskemik atak, inme, hipertansif ensefalopati

Optik fundus: papilla ödemi ile beraber olan ya da olmayan retinal kanamalar ve eksüdalar

Böbrek: 2.0 mg/dl üzerinde plazma kreatinin konsantrasyonu, böbrek yetmezliği

Damarlar: dissekan anevrizma, semptomatik tıkalıcı arter hastalığı

2.3.4 Genel nedenler ve belirtiler

Hipertansiyon ve soy çekimi arasında önemli bir ilişki vardır. Uzun süreli stres veya çok tuzlu diyet kan basıncını yükselten nedenlerdir. Obezitenin de önemli rolü vardır. Tropikal iklimlerde yüksek kan basıncına daha az rastlanmaktadır. Bu da muhtemelen iklim şartlarından çok, daha rahat yaşam biçimlerinin olmasıyla ilgili görülmüştür. Stres, hareketsizlik, alkol ve sigara kullanımının ve bazı ilaçların yüksek tansiyonu hazırladığı bildirilmektedir.

Hipertansiyonda belirtiler genelde yoktur veya birçok normal tansiyonlunun yüksek tansiyona ait belirtileri farklı nedenlerle hissedebilmeleri nedeniyle hipertansiyondaki belirtiler gözden kaçabilmektedir. Bunların en sık görülenleri burun kanaması, kulaklarda çınlama, baş dönmesi, bayılma hissi, sabah baş ağrıları, depresyon, görme bozuklukları, gece idrarı, gerginlik, yüzün kızarması ve sıcaklık hissidir. Bu yakınmalar sıklıkla yüksek tansiyonun erken dönemlerinde vardır; geç dönemlerde hipertansiyonun komplikasyonlarına göre daha ağır belirtiler görülür.

2.3.5 Risk faktörleri

Artmış kan basıncı çoğunlukla semptom vermez. Kan basıncı artışı kademeli ya da hızlı olabilir. Ancak, hipertansiyon ilk olarak ağır bir komplikasyonla da ortaya çıkabilir. Hipertansiyona predispozan başlıca faktörler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

- *Ailede hipertansiyon/inme hikayesi
- *Olası irksal duyarlılık
- *Bazı ilaçların kullanılması
- *Önceden mevcut renal hastalık
- *Yüksek vücut kitle indeksi
- *Yüksek alkol tüketimi
- *Sigara alışkanlığı
- *Yüksek sodyum alımı
- *Egzersiz yapılmaması

2.3.6 Klinik hipertansiyonda reninin rolü

Kan basıncı dengesinin ana mekanizmalarından birisi renin-anjiotensin-aldosteron sistemidir (RAAS). Bir renal arterin daralması, renin salınımında ani bir artışa ve kalıcı hipertansiyon gelişmesine neden olur. (Renal hipertansiyon veya Goldblatt hipertansiyonu). İskemik böbrek çıkarılır ya da arteriyel darlık cerrahi olarak düzeltilirse ve kan basıncı çok uzun süreden beri yüksek değilse bu basınç normale döner. Renal arterlerden sadece biri daraltılarak oluşturulan deneysel hipertansiyonda serum renin derişimi yükselir. Bu tablonun klinik karşılığı, bir renal arterin ateromatöz plakla daralması veya renal dolaşımdaki diğer anormalliklerden birine bağlı olan renal hipertansiyondur. Öte yandan tek darlık- tek böbrek Goldblatt hipertansiyonunda plazma renin etkinliği genellikle normaldir. Bu olaydaki hipertansiyonun açıklaması tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, renal dolaşımları normal, plazma renin etkinliği normal ve hatta düşük olan bir çok hipertansiyon hastası ACE inhibitörleri ya da losartan ile yapılan tedaviye olumlu yanıt vermektedir.

Reninin, aldosteron salgılanmasının düzenlenmesi üzerinden giderek ekstraselüler sıvı hacminin sabit tutulmasına yardım eden geri bildirim mekanizmasındaki rolü bilinmektedir. Bazı normotansif siroz ve nefrozlu hastalarda görülen aldosteron salınımı artışından (sekonder hiperaldosteronizm) aşırı renin salınımı sorumlu tutulur.

2.4 ACE gen polimorfizmi ile ilişkili temel ve klinik kavramlar ve hastalıklar

2.4.1 ACE gen polimorfizmi ve hipertansiyon

Aynı aileye ait bireyler çevresel koşullarda olduğu gibi birbirine koşut bir kan basıncı düzeyini sağlayabilecek benzer bir genetik yapıyı da barındırmaktadırlar. Genetik faktörler arasında anjiotensin konverting enzim (ACE) geni I/D polimorfizmi sistolik kan basıncını ve ACE inhibitörlerinin farmakolojik etkilerini modifiye edebilecek olası bir aday olarak görülmektedir. Bireysel sistolik kan basıncı konusunda familial faktörlerin rolünü anlamak için genetik epidemiyoloji temelinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda genellikle genetik faktörler ve çevresel koşulların

sistolik kan basıncı değişkenliklerinde familyal bir kümelenme oluşturduğu gözlenmiştir. Bu bağlamda, hipertansiyonu önlemeye yönelik stratejilerin yaşlı gruplardan ziyade gençlere yönelmesi ve hipertansiyonun önlenmesi ve ACE inhibitörleri ile tedavisinin bireylerden çok ailelere odaklanması gerektiği düşüncesi ağırlık kazanmıştır.

Sistolik kan basıncının kardiyovasküler hastalıklar açısından ana risk faktörlerinden biri olduğu bilinir. Sistolik kan basıncı düzeyi yaşla birlikte artar ve genetik faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Ayrıca yerleşmiş bir hipertansiyonda kan basıncının farmakolojik tedavi yöntemi sistolik kan basıncı düzeyinin önemli bir belirleyicisidir.

Antihipertansif ilaçların yaygın ve etkili bir grubunu ACE inhibitörleri oluşturmaktadır. ACE'in bu ilaçlarla bloke edilmesi anjiotensin II düzeyini düşürmekte, bu nedenle vazokonstriksiyon ve renal sodyum alımı azalmaktadır. Bu durum daha düşük bir kan basıncı düzeyi sağlamaktadır. Sistolik kan basıncının ailesel kümelenmesinin temelinde yer alan genetik faktörler arasında anjiotensin konverting enzim (ACE) geni I/D polimorfizminin önemli bir unsur olduğu görülmektedir. ACE düzeyleri yüksek oranda kalıtılır ve bireyler arasında büyük değişkenlik gösterir. ACE geninin (Chr.17q23) insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmi içerdiği ve bunun da plazma ACE konsantrasyonunda %47 oranında değişkenlik sağladığı gösterilmiştir. Bu nedenle ACE inhibitörü ilaçların farmakolojik etkisi ailesel faktörlerle özellikle de ACE geni I/D polimorfizmi ile modifiye olabilir. ACE gen polimorfizminin ayrıca kan basıncındaki değişikliklerle ilişkili fizyolojik yaşı da modüle edebileceği ileri sürülmektedir (11).

Esansiyel hipertansiyon, patogeneğinde yer alan bir kaç gen temelinde poligenik bir hastalıktır. Kan basıncının regülasyonunda görev alan renin anjiotensin sistemi hipertansiyon gelişiminde önemli bir rol oynayabilir. Bununla birlikte hipertansiyonla ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişki hala tartışmalıdır. Daha önceleri Zee ve arkadaşları insersiyon (I) alelinin hipertansiyon markırı olabileceğini ileri sürmüşlerdi (20). Ancak sonraki yapılan çalışmaların verileri bu ilişkinin gerçekte yaşla bağlantılı olarak delesyon aleli (D) için söz konusu olduğunu göstermiştir. Jeunemaitre

ve arkadaşlarının yaptığı kapsamlı bir çalışma Utah'taki hipertansiflerde kardeşler arasında bir bağlantı ortaya koyamadı. Beyaz popülasyonda yapılmış bazı çalışmalar da ACE gen polimorfizmi ile hipertansiyon arasında bir ilişkiyi teyit etmekte yetersiz kaldı. Duru ve arkadaşları Afrika kökenli Amerikalılarda hipertansif olgularda D alel frekansının daha yüksek olduğunu tespit ettiler (21). Son dönemde Wilson ve arkadaşları hipertansiyon ile ACE DD genotipi arasında pozitif bir ilişkiyi rapor ettiler. Genel olarak ACE gen polimorfizmi ile hastalık arasındaki ilişki çalışılırken etnik orijinin de ciddi biçimde göz önüne alınması gerektiği düşünülmektedir. Bu nedenle hipertansiyon-ACE gen polimorfizmi ve kan basıncı ile ACE aktivitesi arasındaki bağlantı değişik etnik gruplar üzerinde de çalışılmıştır.

ACE geni ve ona eşlik eden fizyolojik unsurlar ile kan basıncı arasındaki ilişki bir paradoks yarattı. Renin-angiotensin sistemi (RAAS) nin kan basıncının önemli bir belirleyicisi olması ve ACE inhibisyonunun yararı üzerine elde edilen son verilere rağmen ACE I/D polimorfizmi ile hipertansiyon arasında direk bir ilişkiyi göstermek zordu. Bununla birlikte büyük popülasyonlar temelinde yapılan son çalışmalarda erkeklerde –ama kadınlarda değil- hipertansiyon ve diastolik kan basıncı ile ACE loküsü arasında genetik bir bağlantı olduğuna dair veriler mevcuttur.

Son döneme ait bazı çalışmalar ACE genotipinin ACE aktivitesini etkilediğini ancak bu etkinin nicel olarak küçük olduğunu ifade etmektedir. Diğer yanda ACE aktivitesi ile sistolik ve diastolik kan basınçları arasında ACE genotipinden bağımsız olarak pozitif bir ilişki bulunmaktadır. ACE aktivitesi ile vücut kitle indeksi arasında belli bir ilişki saptanamamıştır. Genetik düzeyde I/D polimorfizmi serum ACE'deki değişkenliği etkileyen ve belirleyen bir unsurdur. Fizyolojik düzeyde ACE ekspresyonu ölçülemeyen çevresel faktörlerden de etkilenmektedir ve vücut kütle indeksi ile değil ama kan basıncı ile korelasyon göstermektedir. Morris ve arkadaşları Avustralyalı beyazlarda yaptıkları çalışmada hipertansiyonda DD genotipinin erken ölüm riski ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kario ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada DD genotipi olan yaşlı hastalarda II genotipine oranla daha fazla endotelial hücre hasarı olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, ACE I/D polimorfizmi ile esansiyel hipertansiyon olgularının

homojen grupları arasında kayda değer bir ilişki tespit edilmiştir. Ayrıca kan basıncı fenotipi ile moleküler düzeyde değişkenlerle bağlantı sağlamak için hipertansiyon eğilimli gen ekspresyonunu değiştirebilen çevresel faktörler net bir biçimde ortaya konabilmelidir (16).

Hipertansiyon yetişkinlerde kardiyovasküler hastalıklar için majör risk faktörüdür ve 65 yaş üzerindeki insanların yaklaşık üçte ikisinde vardır. Fakat yaşlanma, obezite ve alkol tüketimi gibi çevresel faktörler hastalığın başlamasına katkıda bulunur. Genetik faktörler de genel popülasyondaki kan basıncı değişikliklerinin önemli bir kısmında etkili olur. Anjiotensin converting enzim geninin 16 nolu intronundaki insersiyon/delesyon polimorfizmi ACE plazma düzeyindeki değişimin yaklaşık yarısından sorumludur ve ACE geni kan basıncı regülasyonu için aday gen olarak kabul edilir. Bununla birlikte ACE I/D polimorfizmi ve kan basıncı ilişkisi üzerine olan vaka control çalışmalarından elde edilen veriler birbiriyle çelişmektedir ve önceden yapılan bir kısım kardeş çiftler arası bağlantı çalışmaları ACE gen loküsü ve hipertansiyon arasında genetik bağlantıyı göstermekte yetersiz kalmıştır. Hayvan çalışmalarında öne çıkan ve ACE I/D gen polimorfizminin ACE düzeyleri ve kan basıncı üzerine kadınlarda değil ama erkek popülasyonda etkili olduğuna dair hipotez de kesinlik kazanmamıştır. Uyumsuz sonuçların hem değişik toplumların genetik yapı farklılığından hem de değişik çevresel koşullara maruz kalmalarından kaynaklanıyor olması muhtemeldir.

Sonuç olarak kadınlarda değil ama erkeklerde ACE genotipi ile diastolik kan basıncı ve hipertansiyon arasında ilişki olduğuna dair verilerin olduğu söylenebilir. Kesin bir kalıtım moduna dair net ve açık kanıtlar olmamakla birlikte ACE DD genotipinde hipertansiyon olasılığında istatistiksel olarak anlamlı olacak ölçüde yükseklik saptanmıştır.

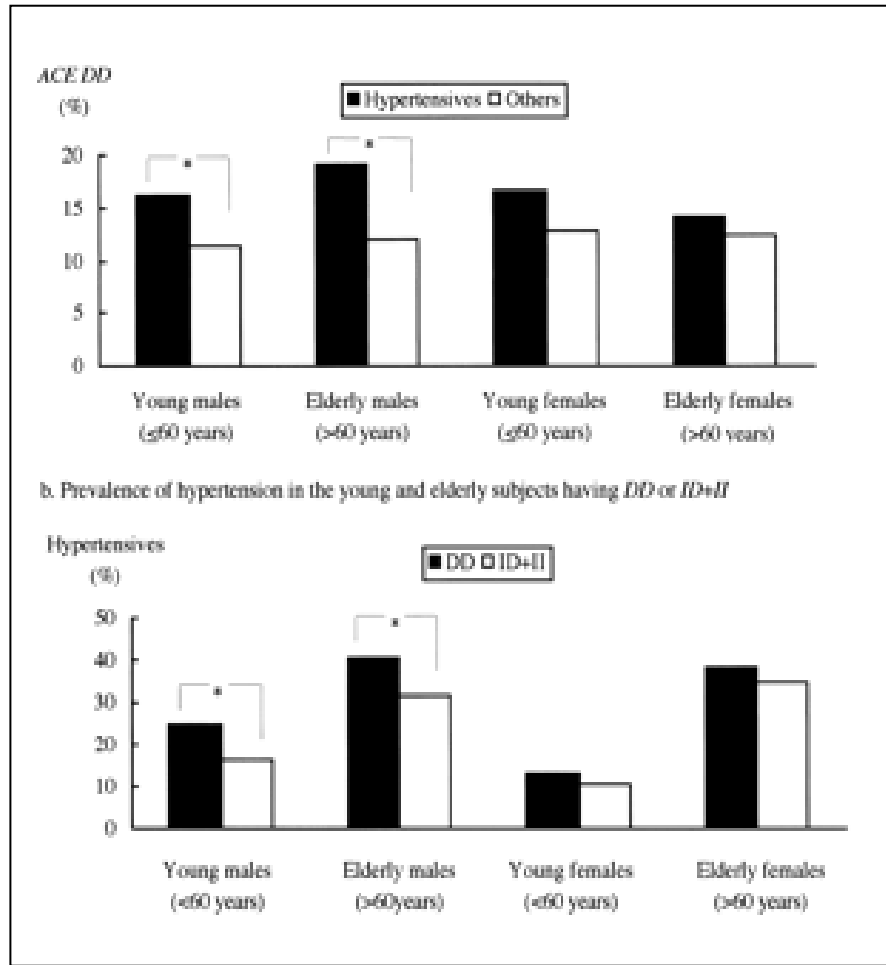
Hipertansiyon kompleks bir kavramdır ve onun ekspresyonuna aracılık eden bir çok potansiyel aday gen arasında anjiotensinojen ve renin anjiotensin sistemi ile ilişkili diğer faktörlerin olduğu kadar ACE geni de ekspresyona aracılık etmektedir. ACE D alelin ACE plazma düzeylerindeki değişkenliğin yaklaşık yarısından sorumlu olduğuna dair güçlü kanıtlar ve bağlantı çalışmaları olmakla birlikte ACE lokusu ile kan basıncı ve hipertansiyon arasındaki ilişki tartışmalıdır. İnsanlarda hipertansiyonla ACE D alelinin

pozitif ilişkisi bazı gruplarda gösterilmiş, bazılarında gösterilememiştir. Ayrıca bir kısım vaka kontrol çalışmasında klinik olarak koroner ateroskleroz ile myokard infarktı olan kişilerde ACE ile kan basıncı arasında negatif bir ilişki rapor edilmiştir (22).

Bilim adamları, Vaka kontrol çalışmaları, etkilenmiş kardeş-çift analizleri ve sıçan cross-deneyleri gibi bir çok araştırma ile esansiyel hipertansiyonun genetik patogenezini açıklamaya çalışmışlardır. Aday gen kavramı hipertansiyondan sorumlu genleri tanımlamaya dönüktür. Renin-anjiyotensin sisteminin çalışılması, hipertansiyon için risk artışında anjiyotensinojen geninin (AGT) bir kaç genetik varyantının rol oynadığını göstermiştir. Yüksek kan basıncı (BP/SP1) için majör loküs sıçanlarda anjiyotensin konverting enzim gen loküsünün yer aldığı 10 numaralı kromozomda lokalizedir. Bununla birlikte çoğu insan çalışması esansiyel hipertansiyon ile insan 17 numaralı kromozomunda yer alan ACE polimorfizmi arasında pozitif bir ilişkiyi tanımlamakta yetersiz kalmıştır.

Büyük sayıda hipertansif kardeşler arasında gerçekleştirilen son iki çalışma ACE loküsü ile hipertansiyon arasında bir linkajı tariflemektedir. ACE geninin 16 numaralı intronundaki insersiyon/delesyon I/D polimorfizmi hipertansiyon ile -yalnızca erkeklerde olmak üzere- büyük oranda ilişkilidir. 1990 yılında Rigat ve arkadaşları tarafından tanımlanan ACE I/D polimorfizmi kısmen plazma ACE düzeyi ile ilişkilidir. ACE DD genotipi plazma ACE konsantrasyonunu ve bu bağlamda myokard infarktüsü, kardiyomyopati, IgA nefropatisi ve diabetik nefropati gibi çok sayıda kardiyovasküler ve renal hastalık riskini artırmakla birlikte vaka kontrol çalışmalarından elde edilen bulgular mütemadiyen pozitif çıkmamaktadır. Değişik etnik gruplar arasında genetik ve çevresel heterojenite birbiriyle uyumlu olmayan sonuçlar vermektedir. Bu durumda gen polimorfizminin etkisinin büyük ve homojen bir popülasyonda test edilmesi daha mantıklı olabilir.

Son bir çalışma Japon toplumunda cinsiyet faktörünü de göz önüne alarak ACE I/D polimorfizmi ve hipertansiyon arasındaki ilişkiyi test etmektedir. Bu çalışma Japonya'da ACE DD genotipinin kardiyovasküler riskini değerlendirmek için yapılan ilk büyük ölçekli genetik epidemiyolojik araştırmadır (23).



Şekil 2.10 Genç ve yaşlılarda hipertansiyona ACE genotipinin etkisi (23).

Hipertansiyonun sekse göre değişkenliğinin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Bu konuda öne sürülen düşüncelerden biri, östrojen replasman tedavisi ve menapoz durumu ile hipertansiyon arasında bir bağlantı kurulamamasına karşın östrojenin hipertansiyona karşı koruyucu olduğu yönündedir. Yapılan bazı çalışmalarda seks özgünlüğünün yaşlı hastalarda azaldığı gösterilmiştir.

Japon toplumu için yapılmış geniş ölçekli çalışmanın Framingham çalışmasından farkı ACE DD genotipinin diastolik değil sistolik kan basıncı ile ilişkilendirilmiş olmasıdır. SBP artmış kardiak outputu ya da büyük arterlerin rezistansını yansıttığı için

ACE DD genotipinin hipertansif etkisi artmış sol ventrikül kitlesi veya büyük arterlerin ateroskleroza ile de ilişkili olabilir (23).

Tanımlanabilen çevresel risk faktörleri ile bir kombinasyon halinde kalıtsal faktörler esansiyel hipertansiyonun doğal gidişi ve patogenezi konusunda önemli belirleyicilerdir. D alelinin varlığında ACE nin esansiyel hipertansiyon riskini artıran bir faktör olarak gündeme gelmesi söz konusu olmuş ve bu gen polimorfizmine ilgiyi artırmıştır (16). Hint toplumundaki bazı çalışmalarda öne sürüldüğü üzere hipertansif olgularda DD homozigotesi normal popülasyona oranla yüksek bulunmuştur. Morise ve arkadaşları (1994) Japonya’da hipertansif hastalarda DD genotipini normotansiflere oranla daha yüksek frekansta saptamışlardır. Sonraki dönemde bu durum büyük bir popülasyonda yapılan çalışmayla Japon erkeklerinde –ama kadınlarda değil- onaylanmıştır (23).

Bhavani ve arkadaşları 146 erkek ve 54 kadın olmak üzere yaş ve seks karşılaştırmalı toplam 200 hastada ACE D aleli ile hipertansiyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve kadınlarda değil ama erkeklerde özellikle diastolik kan basıncında olmak üzere bir bağlantı gözlemlemişlerdir. Bu seks spesifik ilişki Framingham Çalışmasıyla uyumludur. (O’Donnell ve ark. 1998). Bununla birlikte bu çalışma Afrika kökenlilerde yapılmış ve kadınlarda da hipertansiyon ve D aleli bağlantısı rapor eden çalışmayla uyumlu değildir (Sagnella ve ark. 1999). Ayrıca Sagnella ve arkadaşları Güney Asyalılarda hipertansiyon prevalansı ile seks arasında kayda değer bir bağlantı tespit edememiştir (24).

2.4.2 ACE gen polimorfizmi ve diyetle sodyum alımı

II ve ID genotipine kıyasla DD genotipli renal hastalar arasında ACE inhibisyonuna azalmış kan basıncı ve proteinüri yanıtı yüksek sodyum alımı olan olgularda gösterilmiş fakat düşük sodyum alımı olanlarda rapor edilmemişti. Bu bizi diyetle sodyum alımı ve ACE I/D polimorfizmi arasında bir gen-çevre etkileşimi olduğu hipotezine götürüyor.

Liberal sodyum alımı ile GFR ve RVR nin AngI’e yanıtı kan basıncı ve aldosteron düzeylerinde olduğu gibi DD genotipine sahip kişilerde artmıştır. Aynı bireylerde

diyette sodyum kısıtlaması ACE genotipi ile sodyum alımı arasında bir gen-çevre etkileşimi olduğunu düşündüren genotipler arası farkı elimine etmektedir.

Düşük sodyum alımının anjiyotensine karşı sistemik ve renal vazküler duyarlılığı azalttığı, buna karşılık sürrenal yanıtta resiprokal bir artış sağladığı uzun zamandır bilinen bir gerçektir. Ortalama sodyum alımıyla AngI'e karşı aldosteron düzeylerinde olduğu gibi kan basıncı ve böbrek yanıtı DD genotipine sahip bireylerde daha fazla artmaktadır. Ancak diyette sodyum kısıtlaması genotipler arasındaki farkı azaltmaktadır (25). Bu bağlamda sodyum diyet koşullarının ACE genotipinin klinik fenotipik karakterini modifiye edip etmediğini kesin olarak ortaya koymak ve sodyum kısıtlamasının DD genotipinin istenmeyen fenotipik karakterlerini önlemeye dönük bir strateji olup olamayacağını belirlemek için ek çalışmalara gereksinim vardır.

2.4.3 ACE gen polimorfizmi ve renal sodyum atılımı

Renin-anjiyotensin sisteminin genetik polimorfizmleri ve böbrek fonksiyonları üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. İtalya'da yapılan bir çalışmanın sonuçları M (*AGT*), A (*AT1R*), and C (*CYP11B2*) homozigozitesi ve ACE D alelinin varlığında proksimal tubuler sodyum reabsorpsiyonunun belirgin biçimde daha yüksek olduğu ve hipertansiyon prevalansının arttığı ortaya konulmuştur. Bu bağlamda söz konusu alelik kombinasyonun yüksek sodyum alımı temelinde renal kaynaklı hipertansiyon haplotipi olarak düşünülebileceği öne sürülmektedir (26). Yapılan çalışmalar, segmental tubuler sodyum atılımının araştırılmasının kan basıncının uzun dönem regülasyonunu kapsayan yolların ve mekanizmaların tanımlanmasında değerli bir katkı sağlayabileceğini teyit etmektedir ve renal sodyum atılımında genetik veya kazanılmış özelliklerin insanlardaki kan basıncı değişkenliklerinin önemli bir nedeni olabileceğini desteklemektedir (27).

2.4.4 ACE gen polimorfizmi ve kapiller permeabilite

ACE geni D/D (delesyon/delesyon) polimorfizmi, esansiyel hipertansiyonda aterosklerotik vazküler hastalığın belirleyicisi olan mikroalbuminüri riskini artırmaktadır. Bununla birlikte bu genetik profilin sistemik kapiller endotelyumun bozulmuş makromoleküler permeabilitesine eşlik edip etmediği tam olarak

açıklanmamıştır. Dell'omo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TERalb (transcapillary escape rate of albumin), albuminüri analizi temelinde ACE genotipinin kapiller permeabiliteye olan etkisi araştırılmıştır. Analizler D/D homozigot grup ile I/D ve I/I olguları arasında yapılmış. TERalb D/D hipertansif olgularda daha yüksek olarak saptanmış ve mikroalbuminüriye daha sık rastlanmıştır. Hipertansif olgularda TERalb ve idrar albümin değerleri pozitif bir ilişki içerisinde. Çalışma, ACE D/D homozigotesinin esansiyel hipertansiyon olgularında, özellikle erkeklerde yüksek TERalb ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu durum sistemik vazküler permeabilite üzerine olumsuz genetik yapıyı yansıtmaktadır. TERalb ve albuminürinin birbirine koşut gelişimi, hipertansiyonda renal ve sistemik mikrovazküler anomalilerin ortak bir genetik zemini olduğunu düşündürmektedir.

Alfa-addusin genindeki (ADD1) bir single nükleotid polimorfizmi (Gly460Trp) tuz duyarlılığı, böbrek yetmezliğine eğilim ve diğer bazı renal hemodinamikleri etkilemekte ve kötü bir kardiyovazküler risk profili oluşturabilmektedir. Ancak erken böbrek ve kardiyovazküler hasarın bir markırı ve hipertansiyondaki morbid olayların bağımsız bir prediktörü olan mikroalbuminüri ile bağlantısı henüz net olarak açıklığa kavuşmuş değildir. Bu nedenle Pedrinelli ve arkadaşları ADD1 genetik polimorfizminin idrar albümin düzeyleri ile bağlantısını hipertansiyon olgularında araştırdılar (28). Çalışmaya ADD1 ile olan interaktif etkileşimi nedeniyle ACE I/D gen polimorfizmini eklediler. Çalışmanın sonunda, ADD1 Gly460Gly polimorfizmi olan olgularda, ACE D/D varyantlarında mikroalbuminürinin çok daha sık olduğu görüldü. Tersine, ADD1 Trp alelleri içeren, fakat ACE I/D polimorfizmi taşıyan olgularda idrar albümini böyle bir yükseklik açığa çıkarmadı. Sonuçlar ACE DD and ADD1 Gly460Gly polimorfizminin birlikte, hipertansif erkeklerde albuminüriyi primer olarak etkilediğini ve artırdığını, muhtemelen 460Trp alelinin de ACE D/D genotipinin olumsuz renal etkilerini yatıştırdığını düşündürmektedir.

Sciarrone ve arkadaşları ACE gen polimorfizmi ve alfa-addusinin, diüretik tedaviye bireysel yanıtın oluşumunda önem arz ettikleri hipotezini çalışmışlardır (29). Renin-anjiyotensin sistem reaktivitesi ve renal tubullerin kapasitesi diüretik tedaviye

bireysel yanıtın oluşmasında rol oynarlar. Bu temelde çalışma grubu 87 hafif hipertansif olguda ACE gen I/D ve alfa-addusin Gly460Trp polimorfizmine göre hidroklorotiazid tedavisine kan basıncı yanıtını değerlendirmişlerdir. Bu iki genotipin seçilme nedeni, kan basıncının tuza karşı yanıtını onların birbirleriyle olan etkileşimlerinin önemli oranda belirleyici olması. En az bir ACE I aleli ve bir alfa-addusin 460Trp aleli taşıyan olgularda kan basıncında tedaviye yanıtın (MBP de azalma) yüksek olduğu saptanmış. Bu durum, söz konusu genotiplerin kombinasyonunun aditif bir etkileşme sağladığını göstermektedir. Öte yanda, alfa-addusin Gly460Gly ve ACE DD polimorfizminde diüretik tedaviye yanıtın en az olduğu görülmüştür. Bu iki genotipin kombinasyonunun analizi ilaç tedavisine yanıtın değerlendirilmesinde doğruluk oranını belirgin olarak artırmaktadır.

2.4.5 ACE gen polimorfizmi ve renal hastalıklar

Anjiyotensin Dönüştüren Enzim (ACE) gen insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmi serum ve lokal dokularda ACE konsantrasyonunun belirlenmesinde önemlidir. Ancak bu polimorfizmin ilerleyici böbrek hastalıklarındaki rolü tam olarak açık değildir. Samuelsson ve arkadaşları nondiyabetik, ilerleyici kronik böbrek hastalıklarında DD polimorfizminin böbrek fonksiyonlarındaki azalmaya katkısını araştırdılar (30). DD grubunda ID ve II grubuna oranla böbrek fonksiyonlarındaki azalmanın daha belirgin olduğunu ve daha hızlı seyrettiğini saptadılar. Ayrıca DD polimorfizminin erkek hastalarda –ama kadınlarda değil- böbrek fonksiyonlarında daha hızlı azalmanın önemli bir prediktörü olduğunu ortaya koydular. Su Cho ve Seung Lee'nin akut piyelonefritli çocuklar üzerinde yaptıkları bir çalışma, ACE gen polimorfizminin renal skar gelişimine etkisi konusundadır (31). Akut piyelonefrit sonrası renal skarlaşmanın patogenezi multifaktöriyeldir. Bilinen risk faktörlerine (genç yaş, yüksek grade vezikoüreteral reflü, P-fimbria E.coli ve tedavide gecikme) ek olarak genetik predispozisyonun katkısı olduğu da ileri sürülmektedir. Bu temelde akut pyelonefrit (APN) olgularını çalışan grup ACE gen polimorfizmi ile renal skarlaşma arasında bir bağlantı saptayamamışlardır.

Öte yanda 2004 yılında Erdoğan ve arkadaşları tarafından Ege Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada düşük grade VUR olgularında ACE gen polimorfizminin renal

skarlaşma açısından bir risk faktörü olup olmadığı araştırılmış (32). Çok değişkenli regresyon analizi ile gerçekleştirilen çalışma sonucuna göre ACE gen polimorfizmi DD genotipi düşük gradeli VUR olgularında (Bu olgularda renal skarlaşma azdır) renal skarlaşma açısından büyük bir risk faktörüdür.

Kronik böbrek yetmezlikli (KBY) çocuklarda hastalığın prevalansı ve progresyonunda ACE gen polimorfizminin rolünü araştırmak için Hohenfellner ve arkadaşları KBY li 95 çocuk üzerinde çalışma yaptılar (33). Bu çocuklardan 59 hasta hipoplazi-displazi, obstrüktif üropati ve reflü nefropatisi içerirken 23 tanesinde konjenital ya da kalıtsal hastalık, 13 tanesinde ise 2 yıldan uzun süren, kazanılmış glomerüler hastalık söz konusuydu. Renal malformasyonları olan çocuklar arasında DD genotipine sahip hastalarda 2 yıllık renal survey, ID ve II grubuna oranla oldukça düşüktü. Diğer hastalık gruplarında ACE I/D polimorfizmi KBY seyri açısından belirleyici bir unsur olarak görülmemekteydi. Sonuç olarak ACE DD genotipinin konjenital renal malformasyonlarda progresif KBY gelişimi açısından önemli bir faktör olduğu söylenebilir. Bu hasta grubunda ACE polimorfizminin söz konusu etkisi hipertansiyon ve proteinüriden bağımsızdır.

ACE geni I/D polimorfizminin renal hastalıkların progresyonu ile ilişkilendirilmesi nedeniyle Dixit ve arkadaşları bu polimorfizmin fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) seyrine katkısını araştırmışlar, ancak çalışma sonuçları, FSGS'un varlığı ve seyir hızı ile ACE polimorfizmi arasında bir bağlantı ortaya çıkarmamıştır (34).

ACE gen polimorfizmi ile böbrek patolojilerinin bağlantısına dönük olarak Sasongko ve arkadaşları Endonezya'da nefrotik sendromlu çocukları çalışmışlardır. Önceki çalışmalarda bildirildiği üzere ACE geni, idyopatik nefrotik sendrom (INS) ve özellikle de fokal segmental glomerüloskleroz subtipi için olası bir genetik risk faktörü olarak rapor edilmiştir. D aleli steroid tedavisine kötü yanıt ile ilişkili olabilir. ACE gen polimorfizmi D aleli ile INS arasındaki bağlantıyı açıklığa kavuşturmak için Sasongko ve ekibi Cava-Endonezyan hastalarında D alelinin prevalansını çalıştılar (35). Ek olarak her bir genotip ile minimal change nefrotik sendrom (MCNS) hastalarındaki steroid duyarlılığını analiz ettiler. Çalışmanın sonucunda Cava-Endonezyan popülasyonunda D alelin FSGS hastalarında MCNS ve kontrol grubuna oranla biraz daha yüksek olma

eğilimi göstermesine rağmen genotip dağılımı ve alelik sıklık bakımından bu üç grup arasında çok belirgin farklılıklar saptamadılar. Ayrıca D alel sıklığı ile MCNS hastalarındaki steroid duyarlılığı arasında bir ilişkinin olmadığını da rapor ettiler.

Nefrotik sendrom, çocuklarda karşılaşılan en yaygın renal problemlerden birisidir. Steroid tedavisine yanıtı ve dirençliliği belirleyici olduğu için başlangıçta hastalığın seyrini belirlemek zordur. Yine bu bağlamda, Hindistan'da Gandhi Enstitüsü'nde Patil ve ekibi steroid sensitif nefrotik sendrom olgularında ACE gen polimorfizmi bağlantısını çalıştılar (36). Bu çalışmada, normal kontrol grubuna oranla steroid sensitif nefrotik sendrom olgularında II genotipi daha yüksek sıklıkta tespit edildi. Bu bağlamda II genotipinin steroid sensitif nefrotik sendromla ilişkisini açığa çıkarmak için daha fazla fonksiyonel çalışmaya gereksinim vardır.

2.4.6 ACE gen polimorfizmi ve diabetes mellitus

Tip II diabetin etiyolojik zemini kesin çizgilerle belirlenememiş olsa da genetik ve çevresel faktörlerin karışımının söz konusu olduğu genel kabul görmektedir. Bu temelde ACE gen polimorfizminin diabet ile bağlantısı üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır.

Hindistan'da ACE gen polimorfizminin diabete eğilimi artırıp artırmadığına dair araştırma yapan Bhavani ve arkadaşları D alelinin hipertansiyona eğilimi artırmakla birlikte diabete karşı koruyucu olduğunu rapor ettiler (37). Aynı temelde, İngiltere'de insülin rezistansı ile ACE genotipi üzerine yapılan bir çalışmada, ACE geni D alelinin artmış duyarlılıkla ilişkili olduğu rapor edilmektedir (38).

Öte yandan, bu konuda ihtilafli düşünceler öne süren çalışmalar da mevcuttur. 2004 yılında İngiltere'de tip 2 diabet ile ACE gen polimorfizminin bağlantısını araştıran Stephens ve arkadaşları, tip 2 diabet olgularında D alel frekansını daha yüksek bulmuşlar ve DD alel sahiplerinde II alele oranla diabetik aile öyküsünün de daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (39).

ACE I/D polimorfizminin sıklığı ve dağılımı ve koroner ateroskleroz için bilinen risk faktörleri ile ilişkisi üzerine Güney İtalya popülasyonu ile yapılan bir çalışmada delesyon homozigozitesi olan olgularda insersiyon homozigozitesi olanlara

oranla açlık kan glukoz düzeyinin daha yüksek olduğu saptanmış (40). Bu fark, ilk grupta yüksek tip 2 diabet sayısı ile uyumludur.

Kennon ve arkadaşlarının yapmış olduğu ve ACE gen polimorfizmi ile diabet ve diabetik komplikasyonlar arasındaki ilişkiyi göstermeyi amaçlayan bir meta analiz çalışmasının sonuçları bu gen polimorfizminin diabetik nefropatinin progresyonu üzerine önemli etkileri olduğu ve diabetik hastalarda artmış vazküler riskin önemli bir belirleyicisi olduğu yönündedir (41). Bununla birlikte, bu düşüncenin kesinlik kazanabilmesi için daha geniş prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmektedirler.

ACE geni I/D polimorfizminin insersiyon aleli tip 2 diabetin komplikasyonlarına karşı koruyucu bir unsur olarak görünmektedir. Düşük doğum ağırlığı önemli ölçüde tip 2 diabetle ilişkilidir. Kajantie ve arkadaşları düşük doğum ağırlığı ve yetişkin glukoz intoleransı arasındaki ilişkiyi ve bu kavramların ACE gen polimorfizmi ile modifiye edilip edilmediğini araştırmışlar (42). Standart oral glukoz tolerans testi ile değerlendirilen hastalarda I alelin daha düşük glukoz ve daha yüksek insülin yanıtı ile bağlantısı kurulmuş. Çalışmanın sonuçları I alelin daha kısa gebelik süresi ve daha yüksek doğum ağırlığı ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

İnsülin bağımlı diabetin (IDDM) kardiyovasküler morbidite ve vital prognoz bağlantısı, renal hemodinamik anomaliler ile belirlenebilen ve genetik bir zemini olan diabetik nefropatidir. Fransa'dan Marre ve arkadaşları ACE gen polimorfizmi ve IDDM'daki mikrosirkülatuar bozuklukları araştırmışlar (43). Kontrol vakalarına oranla diabetik nefropatisi olan IDDM olgularında II aleli oranı daha düşük bulunmuş. Bütün diabetik gruplarda retinopatiden bağımsız olarak, plazma ACE düzeyleri hafifçe yüksekti. Fakat nefropati olgularında yükseklik daha fazlaydı. Bu çalışmada, ACE II genotipi, diabetik nefropati riskinin az olması konusunda bir markır olarak değerlendirilmektedir.

Tip 2 diabetin mikrosirküler komplikasyonları ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi Türkiye'de Mustafa Araz ve arkadaşları çalışmışlar, üriner albümin/kreatinin oranı ile nefropatiyi, fundoskopik muayene ile retinopatiji değerlendirilmişlerdir (44). Diabetik hastalarda ACE I/D polimorfizmi ve alel frekansı ile kontrol grupları arasında önemli bir farklılık gözlememişler ve sonuç olarak Türk tip 2

diabet hastalarında söz konusu polimorfizmin diabetik nefropati ve retinopati ile ilişkisini saptayamamışlardır.

Tip 2 diabet ve komplikasyonları ile ACE gen polimorfizmi bağlantısı konusundaki tezler bilim adamlarının dikkatini ACE inhibitörlerine çevirmelerine yol açmıştır. Bu bağlamda ACE inhibitörü kullanan hipertansif hastaların araştırılması bu kişilerde diabet gelişiminin %14-34 oranında azaldığını ortaya çıkarmıştır (45).

2.4.7 ACE gen polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklar

Renin anjiyotensin aldosteron sisteminin kardiyovasküler hastalıkların patogeneziindeki rolü bilinmektedir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) anjiyotensin I'den anjiyotensin II'ye dönüşümü ve vazodilatatör etkili bradikininin parçalanmasını sağlar. Anjiyotensin II güçlü bir vazokonstriktör madde olup, hipertrofi uyarıcı etkiye sahiptir. ACE inhibisyonunun sol kalp yetersizliği olan hastalarda mortaliteyi azalttığı, koroner arter hastalığı primer ve sekonder korunmasında etkin olduğu bilinmektedir (46). Serum ve doku ACE düzeyleri ACE genindeki insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmiyle ilişkilidir. Anjiyotensin II düzeyi homozigot D aleline sahip kişilerde (17. kromozomda bulunan ACE geninin 16. intronundaki 287 baz çiftinin eksikliği), heterozigot veya homozigot I alelli kişilere göre daha yüksektir. ACE gen polimorfizminin kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkileri üzerine çelişkili bildiriler mevcuttur. Sol ventrikül hipertrofisiyle ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişki genel olarak kabul edilmiştir. Buna göre D/D genotipine sahip bireylerde sol ventrikül ve kalp kitlesinin daha fazla olduğu görülmüştür (47-49). Bazı araştırmacılar koroner arter hastalığı, iskemik ve idiyopatik kardiyomiopatiyle ilişkili olduğuna dair raporlar bildirmişken, yine başkaları bu durumun aksini gösteren sonuçlara varmışlardır (50-53). Türk toplumunda ACE gen polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklarla ilgili daha önce yapılmış çeşitli yayınlar mevcuttur. Buna göre bazı yazarlar koroner arter hastalığı olan grupta D alel sıklığını fazla bulurken başkaları arada anlamlı fark bulamamıştır . Tip II diabetik Türk hastalarda hipertansiyon, mikrovasküler komplikasyon ve ateroskleroz gelişimi üzerine ACE genotipinin etkisi bulunmamıştır (54-56). Buna karşılık ciddi esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda D alelinin rolü olabileceği

düşünülmüş, bir başka çalışmada da esansiyel hipertansiyonlu hastalarda ACE genotipinin sol ventrikül hipertrofisi üzerine etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (57).

Dr. Akbulut ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sonuçlar ACE D/D genotipi ve D alelinin erken koroner arter hastalığı gelişiminde rolü olmadığını düşündürmektedir (58). ACE gen polimorfizminin kalp kitlesi ve sol ventrikül hipertrofisi üzerine etkili olduğu ve D/D genotipine sahip bireylerde daha fazla olduğu genellikle kabul görmektedir . Türk toplumunda bu konuyla ilgili yapılmış Tezcan ve arkadaşlarının esansiyel hipertansiyonlu hastaları sağlıklı kontrollerle karşılaştırdıkları çalışmalarında, sol ventrikül kitlesinin her üç genotip arasında anlamlı farklı bulunmamışlardır. Toplumumuzda bu konuda etnik bir farklılık olabileceği gibi, aradaki fark hasta sayısının yetersiz oluşu ve istatistiksel farklılıktan kaynaklanıyor olabilir, çünkü bu çalışmada da D/D ve I/I genotipleri arasında sol ventrikül kitlesinde %14.5 fark bulunmuştur (D/D:113±37g/m²; I/I:96±11g/m²). Hipertrofik kardiyomiyopati ile ilişkili az sayıda yayında da, D/D genotip ve D alelinin bu konuda rolü olabileceğini düşündürmektedir (59,60). Koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü ile ACE gen polimorfizmi en çok yayın bulunan konulardan biri olmasına rağmen bu konuyla ilgili fikir birliği oluşmamıştır. Toplumumuzda bu konuya ilişkin Tokgözoğlu ve arkadaşlarının koroner anjiyografileri yapılmış 393 hastada elde ettikleri sonuca göre, koroner arter hastalığı, miyokard infarktüsü olan ve olmayan grupta D alel frekansını sırasıyla 0.61 ve 0.62 bulmuşlardır (61). Yine aynı çalışmada konvensiyonel risk faktörlerine göre koroner arter hastalığı yönünden düşük riskli gruplarda da D alel sıklığı farklı bulunmamıştır. Buna karşılık koroner arter hastalığı yaygınlığını gösteren Gensini skorlaması DD genotipi olanlarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Buna karşılık koroner arter hastalığı olan Türk popülasyonunun sağlam kontrollerle karşılaştırıldığı iki ayrı çalışmada D alelinin hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunduğu gözlenmiştir (59,60). İşbir ve arkadaşlarının çalışmasında kontrol grubunda D alel frekansı 0.49 tespit edilmiş olup, alışılmışın dışında düşük bulunmuştur (62). Akar ve arkadaşları da Ankara çevresindeki hastalarda D alel frekansını 0.73 gibi oldukça yüksek bir değerde bulmuşlardır (63). Bu bölgedeki etnik özellikler ACE genotipinin koroner arter hastalığı gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir. Akbulut ve arkadaşlarının çalışması erken

koroner arter hastalığı gelişiminde ACE genotipinin etkili olmadığını düşündürürken, konvensiyonel risk faktörlerinden sigara içimi, total kolesterol yüksekliği, HDL kolesterol düşüklüğü, LDL kolesterol yüksekliği, obezite ve diyabetin önemini bir kez daha ortaya koymuştur (58).

2.4.8 ACE gen polimorfizmi ve malignite

Sigara ve kanser ilişkisi. Genel Japon popülasyonunda sigara içimi ve anjiyotensin dönüştüren enzim gen polimorfizminin total kanser ölümlerine uzun dönem katkısı bir prospektif çalışmada analiz edilmiş (64). Kırk yaş ve üzeri 937 olgu seçilip 32 yıllık bir sürede takip edilmiş. İzleme periyodunda 176 olgu kanserden ölmüş. Kanser mortalitesi sigara içimi düzeyiyle koşut olarak artmış. Yaş, seks, alkol alımı, beden kütle indeksi, glukoz intoleransı, serum total kolesterol ve sistolik kan basıncının değerlendirilmesi sonrası ACE genotipi ile yapılan çok katmanlı analizde aktif sigara içen DD genotipine sahip olgularda fatal kanser riski II ve ID alellerine oranla iki kat daha yüksek bulunmuştur. Aynı biçimde DD grubunda kanserden ölüm riski de II ve ID genotiplerine oranla belirgin olarak yüksek bulundu. (hazard ratio 1.77; 95% confidence interval 1.04-3.00; P=0.03). Sonuç olarak, ACE DD genotipinin genel popülasyonda sigara içimiyle oluşan kansere bağlı ölüm riskini artırdığını söyleyebiliriz.

Mide kanseri. Gastrik kanser dünya üzerinde en yaygın ikinci malignitedir ve mortalite düzeyi akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Çoğu kanserler, küratif rezeksiyonun imkansız olduğu ilerlemiş aşamalarda tanımlanır. Bu durum gastrik kanser hastalarının büyük çoğunluğunda kötü survey oranlarına neden olmaktadır. ACE insersiyon/delesyon polimorfizmi son zamanlarda insan kanserlerinin patogenezi ve progresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Matthias ve arkadaşları, mukoza ya da submukoza ile sınırlanmış 84 erken gastrik kanser olgusunun genomik DNA larını kullanarak PCR analizi aracılığıyla insersiyon ve delesyon polimorfizmini değerlendirdiler ve büyük nonkanser kontrol popülasyonu ile kıyasladılar (65). Nonkanser kontrol grubunda II genotipi %23 (33 kişi) iken, kanser grubunda bu oran %7 (6 kişi) olarak tespit edildi. Yine nonkanser grubunda DD homozigotesinin oranı % 27 çıkarken, kanser grubunda bu oran % 41 oldu. (P = 0.0034). Tümör tipi, tümör aşaması ve helicobakter pilori ile bir

bağlantı kurulamadı. Çalışma, erken gastrik kanser gelişimi ile ACE insersiyon/delesyon polimorfizmi arasındaki bağlantıyı destekleyici sonuçlar vermiştir.

Göğüs kanseri. Anjiotensin II'nin meme kanseri açısından insan hücrelerinde ve hayvan modellerinde muhtemel mitojenik ve anjiogenik etkileri gösterilmiştir. Bu unsur daha önce de belirttiğimiz gibi, ACE aracılığıyla prekürsör yapıdan (Agt1) oluşmaktadır. Son bir epidemiyolojik çalışmada ACE inhibitörü kullanan dişilerde aynı koşullarda ACE inhibitörü kullanmayanlara oranla göğüs kanseri insidansının daha düşük olduğu gösterildi. Azalmış ACE aktivitesini azalmış göğüs kanseri riski ile ilişkilendiren hipotezi test etmek için grup çalışması yapan Koh ve arkadaşları, bir vaka kontrol çalışması temelinde ACE A240T ve I/D gen polimorfizmi ile göğüs kanseri riskini analiz ettiler (66). Bu bağlamda 189 göğüs kanseri ile 671 dişi kontrol grubu kıyaslandı. Çalışma sonucunda A240T polimorfizminde A aleli, I/D polimorfizminde ise I aleli, TT ve DD genotipine oranla düşük risk alelleri olarak değerlendirildi. Bulgular ACE ve dolayısıyla anjiotensin II'nin göğüs kanserinde etkili olduğuna ve renin-anjiotensin sisteminin göğüs kanserinin terapisi ve önlenmesine katkı sunabilecek terapötik bir hedef olduğuna dair deneysel verileri desteklemektedir.

Akciğer kanseri. Anjiotensin-konverting enzim (ACE)'nin anjiotensin II'yi aktive etmesi ve bazı nöropeptidleri inaktive etmesi nedeniyle biyolojik olarak aktif peptidleri modüle ettiğini söyleyebilmekteyiz. Önceki bir çalışmada, akciğer kanseri olgularında normale oranla daha düşük ACE aktivitesi olduğu ileri sürülmüş. Bunun akabinde A. J. Cohen ve arkadaşlarının kıyaslamalı olarak 91 hasta (78 erkek ve 13 dişi, SCLC = 10, squamous = 37, adeno = 32, misc = 12) ve 25 sağlıklı kontrol grubunda yaptığı bir çalışma akciğer kanserli hastalarda daha yüksek I/I genotipinin varlığını gösterdi (67). Bu bağlamda, II genotipinin düşük serum ACE düzeyi ile ilişkili olduğunu, düşük serum ACE düzeyinin de akciğer kanserine predispozisyon oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak bu hipotez, anjiotensin II'nin mitojenik etkisi ile çelişmektedir.

Kanser kaxeksisi. ACE gen polimorfizmi insan sağlığı ile ilgili bir çok fonksiyonel üniteyi etkileyen bir genetik varyasyondur. Vigano ve arkadaşları, ilerlemiş kanser hastalarında [Advanced Cancer Patients (ACP)] kas kütlesi ile ACE gen

polimorfizmi arasındaki olası ilişkiye dair bilgi edinmek için 18 yaş ve üzeri 55 ileri düzeyde kanser hastası üzerinde çalışma yaptılar (68). Bilgisayarlı tomografi kesitleri aracılığıyla kas yüzey alanı (MSA- cm^2) hesaplandı. Her bir ACE gen polimorfizmine karşılık kas yüzey alanları (II: 134.04 ± 35.23 ; ID: 122.37 ± 29.74 ; DD: 115.22 ± 27.55) olarak tespit edildi. II aleli daha fazla kas kütlesi ve daha yüksek kas yüzey alanı ile ilişkilidir. Elde edilen veriler ilerlemiş kanser hastalarında ACE gen polimorfizminin kas kütlesini etkilediğini ortaya koymaktadır.

2.4.9 ACE gen polimorfizmi ve diğer hastalıklar:

Behçet Hastalığı. Pamukkale Üniversitesi öğretim üyesi Sabahat Turgut ve arkadaşları 17 numaralı kromozomda 16 numaralı introndaki ACE geninin I/D polimorfizmi ile Behçet hastalığı arasındaki olası potansiyel ilişkiyi 35 Behçet hastası ve 150 sağlıklı kontrol grubunda çalıştılar (69). Behçet hastalarında D alel sıklığını %84.3, I alel sıklığını ise 15.7 olarak tespit ettiler. Çalışmanın sonucunda ACE gen polimorfizmi ile Behçet hastalığı arasındaki ilişkinin, bu kompleks hastalıkta söz konusu olacak terapi yaklaşımları ve ileri moleküler çalışmalar için yararlı bir temel oluşturacağını rapor ettiler.

KOAH. Hopkinson ve arkadaşlarının çalışması kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olan kişilerde ACE geni delesyon (D) alelinin insersiyon aleline oranla daha büyük quadriseps kas gücü ile ilişkili olduğunu göstermiş ve söz konusu bilim insanları bu durumun egzersiz kapasitesi için de uygulanabileceğini önermişlerdir. Öte yanda Hary Gosker ve ekibi sağlıklı olgularda sürekli olarak I alelin pozitif anlamda yüksek egzersiz ve kas performansı ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (70). Aynı zamanda I aleli, fiziksel egzersize artmış yanıtla da bağlantılandırılmıştır. KOAH'da egzersiz kapasitesinin, kas gücünün aksine D aleli ile ilişkisi yoktur. Kaba deyimle performansın korunması I aleli ile, kas gücü ise D aleli ile ilgilidir denilebilir. Ayrıntıda ise I aleli artmış yorgunluğa dirençli yavaş kasılan liflerle ilişkilendirilmiştir. Ek olarak, KOAH olgularında bozuk periferik doku oksijenizasyonunun D aleli ile alakası vardır. I alel yavaş kasılan liflerdeki yüksek oran ve/veya daha iyi kas oksijenizasyonu ile ilgilidir.

Yoğun bakım. Yoğun bakım ünitelerinde uzun süreli tedaviye gereksinim duyan hastalarda D alel sıklığı ve DD genotipinin prevalansı diğer hastalara ve kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. DD ve ID genotipi olan hastalar, II genotipine oranla belirgin biçimde daha uzun süre yoğun bakım ünitelerinde zaman geçirmektedirler (71).

Sarkoidoz. T.Okabe ve arkadaşları 28 sarkoidoz hastasının izole periferik kan monositleri ve kültür mediumunda ve buna kıyasla 25 normal kontrol olgusunda anjiotensin-dönüştüren enzim (ACE) aktivitesini ölçtüler (72). ACE aktivitesinin ölçümü anjiotensin 1 den anjiotensin 2 üretiminin radyoimmünoassay ile belirlenmesidir. Çalışmada normal kontrollerde, monositlerde ve kültür medyumunda ölçülebilir ACE aktivitesi tespit edilemezken, sarkoidozlu hastaların monositleri hem hücrelerde ve hem de kültür medyumunda ACE aktivitesi göstermiştir. Bu çalışma, sarkoidozlu hastaların periferik kan monositleri tarafından ACE salınımının önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Her ne kadar İstanbul Üniversitesi'nden Hatemi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ACE gen polimorfizmi ve sarkoidoz arasında bir bağlantı kurulamamış olsa da (73), ACE aktivitesinin ve bu bağlamda ACE gen polimorfizminin tanı, patogenez ve tedavide olası konumu hususunda daha geniş değerlendirmelere ve tetkiklere gereksinim vardır.

Multipl Skleroz. Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE) aktivitesi multipl skleroz (MS) hastalarının kan ve serebrospinal sıvılarında artmaktadır. Ayrıca MS'in bir hayvan modeli olan deneysel otoimmün ensefalitte ACE blokajı hastalığı suprese etmektedir. Multipl skleroz ile ACE'in genetik ilişkisini analiz etmek için Lovrecic ve arkadaşları MS hastalarında ACE geni insersiyon/delesyon polimorfizmini araştırdılar ve erkek hastalarda ACE I/D alelik frekansı ve genotipinin normale göre istatistiksel olarak büyük ölçüde farklı bir dağılım gösterdiğini saptadılar (74). ACE DD genotipi erkek populasyon için MS ile ilişkili bir unsurdu. (odds ratio 1.86 (95% CI 1.09–3.19, $P = 0.02$). Sonuç olarak ACE geni DD genotipinin erkeklerde MS gelişme riskini artırdığını rapor ettiler.

Egzersiz ısı toleransı. Heled ve arkadaşları anjiotensin dönüştüren enzim (ACE) insersiyon/delesyon (I/D) gen polimorfizmi ile insanlardaki egzersiz ısı toleransı

varyansı arasında bir ilişki olduğuna dair hipotez ürettiler ve bu bağlamda 58 kafkasyalı erkek üzerinde bir çalışma gerçekleştirdiler (75). Çalışma grubu 2 saat egzersiz ısı tolerans testine tabi tutuldu. Isı toleransı aynı zamanda değişik antropometrik parametreler ve aerobik sağlık ile de bağlantılıdır. Heled ve arkadaşları ayrıca, bu hususun ACE gen polimorfizmi ile bağlantısını analiz ettiler. 120 dakika egzersiz ısı stresine maruziyet durumunda, beden merkez ısısında, ısı depolamada ve kalp hızındaki rölatif değişimler II genotipinde DD grubuna oranla mütemadiyen düşük çıktı. (0.8 ± 0.2 vs. $1 \pm 0.1^\circ\text{C}$, $P < 0.05$; 17.7 ± 1.8 vs. $19.8 \pm 1.3 \text{ W/M}^2$, $P < 0.05$; ve 33 ± 7 vs. 44 ± 5 atım/dk, $P = 0.06$). Araştırmacılar yüksek ısı toleransı için ACE geni insersiyon polimorfizminin muhtemel bir aday markır olabileceğini ileri sürmektedirler.

Sistemik skleroz. Sistemik skleozun (SSc) temel özelliği endotelial bozukluktur. Sistemik sklerozda damar duvarındaki patolojik değişiklikler aterosklerotik lezyonlarda belirlenen modifikasyonlara çok benzer ve bu SSc'un artmış makrovazküler hastalıkla karakterize olduğunun kanıtıdır. Renin-anjiotensin sisteminin son ürünü olan anjiotensin II ile ilişkili peptidler endotelial hücre fonksiyonlarının regülatörleri olarak rol oynarlar. RAS'nin anahtar enzimi Anjiotensin-dönüştüren enzim (ACE), kan ve dokularda anjiotensin II formasyonunun kilit unsurudur. ACE geni polimorfizminin ACE enzim düzeyleriyle ilişkili olması ve anjiotensin II düzeylerinin modülasyonunda fonksiyonel bir rolü olması nedeniyle Serena Guiducci ve arkadaşları SSc hastalarında ACE D alelinin sıklığını ve SSc riskinin artışıdaki rolünü araştırdılar (76). Bu nedenle, sıklıkla gangrene yol açan şiddetli vazküler hastalık gelişim riski temelinde, SSc hastalarını tanımlamada I/D polimorfizminin yararlı bir genetik markır olabileceğini ileri sürdüler. Ayrıca, çalışmacıların başlangıç verileri, SSc'a predispozan faktör olarak ACE I/D polimorfizmini desteklemenin dışında intima-media kalınlığını artırarak makrovazküler hastalığı hızlandırdığını da gösterdiler. Bundan dolayı SSc'da ACE I/D polimorfizmi ile bağlantılı gerek anjiotensin II üretimi ve gerekse bradikinin degradasyonu aracılığıyla yalnız endotelial disfonksiyon değil fakat aynı zamanda vazküler hasar da büyük oranda makrovazküler hastalığa katkı yapmaktadır. Çünkü bu unsurlar damar duvar düzeninin korunması ve modifikasyonların indüksiyonunda etkilidir.

Travmatik beyin hasarı. Travmatik beyin incinmesi [Traumatic brain injury (TBI)] sıklıkla sekonder hasarı artırabilecek ve nörofizyolojik bozukluklara yol açabilecek serebrovasküler lezyonlarla sonuçlanır. Daha önce yapılmış çalışmalar anjiotensin dönüştüren enzim (ACE) insersiyon/delesyon gen polimorfizmi ile kardiyovasküler hastalıklar ve kognitif performans arasında bir bağlantı olduğunu öne sürüyordu. Klinik ve deneysel çalışmalar ACE inhibitör tedavisinin vazküler hasar, hipertansiyon, beyin iskemisi ve kognitif fonksiyonlar açısından yararlı etkileri olduğunu gösterdi. 73 orta düzeyde ve şiddetli TBI hastasının örneklerinde araştırmacılar kognitif sekellerin ACE I/D polimorfizmi ile ilişkisini değerlendirdiler (77). D alel taşıyıcısı hastalar dikkat ve düşünme hızı açısından I/I genotipine oranla daha kötü bir performans gösterdiler. Bulgular, TBI olgularında ACE D alel sahiplerinin daha büyük değişimler yaşadığını düşündürmektedir.

Psöriasis. Arka plandaki genetik faktörler, muhtemelen psöriasisin patogenezinde temel öneme sahiptirler. Anjiotensin dönüştüren enzim (ACE) inhibitörleri ile deride kinin düzeyinin artışı temelinde psöriasisin indüklendiği ve/veya şiddetlendiğine dair raporlar vardı. Bununla birlikte ACE insersiyon/delesyon I/D polimorfizminin psöriasisin genetik arka planına katkıda bulunabileceği konusunda yapılmış bir moleküler genetik çalışma bulunmamaktaydı. Bu bağlamda, Özkur ve arkadaşları, psöriasisde ACE I/D polimorfizmi bağlantısını araştırmak için 86 psöriasis hastası ile 154 kontrol olgusu üzerinde analitik çalışmalar yaptılar (78). Çalışmacılar, psöriasis dönük pozitif aile öyküsü olan hastalarda, sporadik psöriasis oranla belirgin olarak daha yüksek düzeyde I alel sıklığı saptadılar. (48% vs. 32%; P = 0.03). Ayrıca I aleli, tip 1 psöriasis (40 yaş ve altı bailangıç ve pozitif aile öyküsü) olgularında tip 2 psöriasis (40 yaş ve üstü, aile öyküsü yok) hastalarına oranla belirgin biçimde daha fazla bulundu. (48% vs. 27%; P = 0.04). Araştırmacılar çalışmanın sonunda psöriatik aile öyküsü olan bireylerde I alelinin varlığının psöriasis gelişimine eğilim yaratabildiğini rapor ettiler.

Menapoz. Methot ve arkadaşları, anjiotensin-converting enzim (ACE) insertion/deletion (I/D), anjiotensinojen M235T ve anjiotensin II tip 1 reseptör A1166C polimorfizmi ile koroner arter hastalığı olmayan postmenopozal kadınlardaki hormon tedavisinin etkileşimini araştırdılar (79). ACE polimorfizminin hormon tedavisi almayan

postmenopozal kadınlarda endotelial fonksiyonları modüle ettiği görülmektedir. (DD ve II genotipi için sırayla: 8.2% +/- 5.1% vs 18.4% +/- 5.9% P = 0.02). Çalışma sonunda araştırmacılar, ACE I/D polimorfizminin postmenopozal kadınlarda endotelial disfonksiyon ile ilişkili olduğunu ve östrojen kullanımı ile ACE polimorfizminin endotelial fonksiyonlar açısından bir etkileşim içerisinde olabileceğini rapor ettiler.

İnme (Stroke). Anjiotensin dönüştüren enzimin (ACE) damar tonusunu ve koagülatif/fibrinolitik sistemi etkilemesi, bununla birlikte ACE geni I/D polimorfizminin PAI-1, fibrinojen düzeyi ve faktör VII ve X aktiviteleri ile bağlantılı olduğu düşüncesi Israel Fernandez ve arkadaşlarını ACE gen polimorfizmi ile trombolitik süreç arasındaki ilişkiyi test etmeye yönlendirdi (80). Orta serebral arteri içeren 96 inme olgusu üzerinde yapılan alışmalar ACE I/D polimorfizmi ile inme ve hemorajik komplikasyonlar arasında direk bir ilişki ortaya koymadı. Ayrıca, faktör VII, X ve PAI-1 ile ACE I/D polimorfizmi arasında direk bir korelasyon gözlenmedi. Ancak bu olguların t-PA temelinde yapılan tedavilerinde rekanalizasyon sürecinin DD homozigotesi ile güçlü bir bağlantısı olduğu açığa ıktı. Bu bağlamda DD homozigotesinin rekanalizasyonun bağımsız bir belirleyicisi olduğu söylenebilir.

Migren. Geçmişte yapılan bazı çalışmalar aurasız migren ile ACE D aleli arasında pozitif bir ilişkinin varlığını ileri sürmektedir. Paterna ve arkadaşları aurasız migren, migrenin süresi ve sıklığının ACE genotipi ile ilişkisini araştırdılar (81). Aurasız migren yakınması olan 302 hastaya çalışmadan 4 hafta öncesi ve çalışma sırasında her hangi bir tedavi verilmedi. Benzer kültür ve yaş gruplarına dahil hastalar ve 201 kişilik kontrol grubunun ACE gen polimorfizmi PCR temelli bir uygulama ile belirlendi. Hastalar gözlem altına alındı. Çalışma sonucunda, migren insidansı ve migren nöbetlerinin sıklığı ile ACE DD genotipi arasında güçlü bir bağlantı olduğu açığa ıktı. Migrenin süresi ile ilgili bir bağlantı tespit edilmedi.

Eretil disfonksiyon. Penil düz kas tonusunun düzenlenmesi ve kontraktilesi anjiotensin II ve nitrik oksit gibi vazoaktif maddelerin etkinliği ile yakından ilişkilidir. Kore Chonbuk National Üniversitesi'nden Park ve ekibi ACE ve nitrik oksit sentaz enzimi gen polimorfizmleri ile erektil disfonksiyon gelişimi arasındaki olası ilişkiyi değerlendirmek üzere bir çalışma gerçekleştirdiler (82). 84 organik erektil disfonksiyon

olgusu ve 63 kontrol vakası çalışmaya dahil edildi. ACE ve endotelial nitrik oksit sentaz gen polimorfizmleri PCR aracılığıyla değerlendirildi. Bu çalışmada endotelial nitrik oksit sentaz genotipi ile erektil disfonksiyon arasında direk bir ilişki saptanamadı. Ancak ACE DD genotipi, organik erektil disfonksiyon olgularında (%54) kontrol grubuna (%24) oranla belirgin biçimde yüksek olarak saptandı. Sonuçta, vazküler erektil disfonksiyon olgularında olduğu üzere, ACE gen delesyon polimorfizmi genel bir vazküler hastalık markırı olarak değerlendirildi.

Sistemik lupus eritematosus (SLE). Sistemik lupus eritematosus otoimmün kökenli, özellikle damarları ve serozaları tutan bir multisistem kollajen doku hastalığıdır. Kalp, damar ve böbrek patolojilerinin ön planda olması nedeniyle, 2001 yılında Prkacin ve arkadaşları ACE I/D gen polimorfizmi ile SLE arasındaki ilişkiyi araştırdılar (83). 18 SLE hastası ve 21 sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda ACE DD, ID ve II genotiplerinin oranı sırasıyla %50, %28 ve %22 olarak tespit edildi. Çalışma, SLE olgularında D allelinin baskınlığını ortaya koymaktadır. Bu sonuç, SLE’de böbrek başta olmak üzere iç organ patolojilerinin oluşumu ve seyrinde ACE genotipinin ilişkisinin daha fazla araştırılması gerektiğini düşündürmektedir.

ARDS. ARDS, akciğerlerde kapiller permeabilitenin artmasına bağlı olarak gelişen, pulmoner ödemle karakterize akut solunum yetmezliği tablosudur. Ödem sıvısı akciğer kapillerinde hidrostatik basıncın yükselmesinden çok parenkim hücrelerinin hasarı nedeniyle oluşur. Sıklıkla fatal gelişim gösterebilen bu sendromun genetik predispozisyonu olabileceğine dönük yaklaşımlar temelinde, 2002 yılında Marshall ve arkadaşları ARDS olgularında ACE genotipini çalıştılar (84). Çalışmanın sonucunda, DD genotipi hem ARDS, hem de ARDS’na bağlı artmış ölüm riski ile önemli oranda ilişkili bulundu.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

- 1) Hibridizasyon cihazı (Profiblot T48, Tecan)
- 2) Thermal Cycler (Applied Biosystems, 2720)
- 3) Kuru ısı bloğu (CHB-202, Bioer)
- 4) Santrifüj (Micro 120, Helttich)
- 5) 1000'lik, 200'lük ve 10'luk mikropipetler (Eppendorf ve Gilson)
- 6) DNA izolasyon kiti (Invitek,, Invisorb Spin Blood Kit)
- 7) FMF Strip Assay PCR ve hibridizasyon kiti (Vienna Lab)
- 8) Elektroforez (Biorad , Midi)
- 9) Güçkaynağı (Biorad)
- 10) Taq DNA polimeraz (Fermentas)
- 11) Ethidium Bromide (EtBr)
- 12) TAE tamponu (Applichem)
- 13) Agaroz (Nu micropor, Prona)
- 14) Otoklav indikatörü
- 15) Tüp (K3- EDTA, Vacuette)
- 16) Eppendorf tüp (1.5, 2 ve 0.2 ml, Sarstedt)
- 17) Mikropipet uçları (beyaz, sarı ve mavi, Biosphere Filter Tips)
- 18) Etil alkol (Merck)
- 19) Yükleme boyası (Fermentas)

3.2. Hasta Grubu

Araştırmaya Sivas coğrafi bölgesi içerisinde ikamet eden 34'ü erkek 52'si kadın olmak üzere 86 kişi dahil edildi. Bu kişilerin seçimi gönüllülük esasına dayanarak rastgele yapıldı. Çalışılan grubun kan alma işlemleri C.Ü Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında yapıldı. Bu kişilerden 2cc periferik venöz kan alınarak EDTA'lı tüpe aktarıldı, tüpler etiketlenerek kullanılıncaya kadar -20 C'de muhafaza edildi. Daha sonra

çalışma grubundaki bireylere ACE gen polimorfizmi ile ilişkili olabilecek hastalık öykülerini (Hipertansiyon ve diğer kardiyovasküler hastalıklar, diabet, renovasküler hastalıklar, kanser, vdb.) sorgulayan bir anket uygulandı (Ek-1).

3.3. Kan dokusundan DNA izolasyonu

Bütün hastalardan genomik DNA izolasyonu periferik kan dokusundan yapıldı. Bunun için Invitek Invisorb Spin Blood DNA İzolasyon Kiti kullanıldı. Yaklaşık 200µl periferik kan dokusunun kullanıldığı teknik sonrasında 30–50 ng /µl ultrapür genomik DNA izole edildi ($A_{260}:A_{280}$ oranı 1,7- 2 arası). İzolasyon için kullanılan 50 hastalık kit içeriği aşağıdaki gibidir;

- 1) Proteinaz K, 1ml(10µg/µl)
- 2) Liziz tamponu (Lysis Buffer A), 15ml
- 3) Bağlanma tamponu (Binding Buffer B6), 30ml
- 4) Elüsyon tamponu (Eluotion Buffer D), 15ml
- 5) Yıkama Tamponu I, 30ml (Kullanılmadan önce 30ml %100'lük etil alkol eklenir)
- 6) Yıkama Tamponu II,18ml (Kullanılmadan önce 42ml %100'lük etil alkol eklenir)
- 7) 2.0ml'lik toplama tüpleri, 100 adet
- 8) 1.5ml'lik toplama tüpleri, 50 adet
- 9) Filtreler, 50 adet

3.3.1. DNA İzolasyon Protokolü

Çalışmadan önce örnek sayısına yetecek kadar elüsyon tamponu (eluotion buffer D) 56°C'ye ısıtıldı. Gerekli kodlamalar yapıldıktan sonra 1,5'luk ependorf tüpe 200µl EDTA'lı kan, 200µl liziz tamponu (lysis buffer A) ve 20µl proteinaz K konuldu. Kapağı kapatılarak tüp 10 sn vortekslendi ve 56°C'de 10dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüp ortamına 400µl bağlama tamponu (binding buffer B6) tüpe eklendi, 3-4 kez pipetaj yapıldıktan sonra lizatın tamamı filtreli toplama tüpüne aktarıldı. Filtre toplama tüpü daha sonra 3dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 12 000 rpm'de 2dk santrifüj

edildi. Filtre yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, üzerine 500µl yıkama tamponu 1 (wash buffer I) eklendi ve 12000rpm'de 1dk santrifüj edildi. Toplama tüpü tekrar değiştirildi, filtre üzerine 800µl yıkama tamponu 2 (wash buffer II) eklenerek ve 12 000rpm'de 1dk santrifüj edildi. Filtre üçüncü kez olarak 2ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, 14 000rpm'de 5 dk santrifüj edilerek yıkama tamponlarından gelen alkolden arındırıldı. Alkolden tamamen arındırmak için filtre dördüncü ve son kez yeni 1,5'luk tüpe yerleştirildi ve 3 dk kapağı açık biçimde oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra filtre membranının tam ortasına 200µl elüsyon tamponu (elution buffer-D) eklendi, 5dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Filtreli tüp 10.000rpm'de 1 dk santrifüj edildi, filtredeki DNA çözültüsü toplama tüpüne aktarıldı. Elde edilen genomik DNA etiketlendi ve -20°C'de çalışılmak üzere muhafaza edildi.

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MTHFR geninin ilgili bölgelerinin çoklu (multipleks) amplifikasyonu için Vienna Lab CVD PCR amplifikasyon kiti kullanıldı. Kit, bir amplifikasyon karışımı (gen bölgesine ait biyotin işaretli primerler, ve diğer amplifikasyon için gerekli bileşenleri içerir) ve Taq DNA polimeraz tamponundan oluşmaktadır.

PCR anakarışım, her hasta için etiketlenmiş 0.2 ml eppendorf tüp ortamı;

Amplifikasyon karışımı : 15µl

Taq DNA polimeraz seyreltici tapon: 4,6µl

Taq DNA polimeraz : 0,4µl

Kalıp DNA : 5µl

Toplam hacim : 25 µl şeklinde hazırlandı.

Amplifikasyon koşulları aşağıdaki gibi ayarlandı:

95°C'de.....2dk (ilk denaturasyon)

95°C'de.....15sn (denaturasyon)

56°C'de.....30sn (bağlanma)

72°C'de.....30sn (uzama)

72°C'de.....3dk (son uzama)

35 döngüden sonra elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edildikten sonra

strip test tekniğinde değerlendirilmek üzere +4°C’de saklandı.

3.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Hibridizasyon işleminden önce elde edilen PCR ürünleri (4 µl) %1’lik elektroforezde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. Başarılı amplifikasyon elde edilen PCR ürünlerinden 10µl ürün revers hibridizasyon analiz için kullanıldı.

3.6. Revers-Hibridizasyon

Southern Blot analiz için Revers-hibridizasyon ProfiBlot T48 (Tecan) hibridizasyon cihazı kullanıldı. Revers-hibridizasyon, biyotin işaretli primerlerle çoklu (multiplex) polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin nitrosellüloz membranlar (stripler) üzerindeki kendi komplementer zincirlerine bağlanması ve bir konjugat-substrat reaksiyonu oluşturması esasına dayanan bir tekniktir.

3.6.1. Revers Hibridizasyon Basamakları ve Kullanılan solüsyonlar

Strip test tekniğinde Revers Hibridizasyon 3 temel basamaktan ibarettir;

1) Strip üzerindeki problemler ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon.

Cihazın örnek yükleme bölgesine (trey) yüklenen 10µl PCR ürünü kitle birlikte sağlanan 10µl DNAT (NaOH içerikli bir denatürasyon solüsyonu) solüsyonu kullanılarak denatüre edildi. Treye strip yerleştirildi. Denatüre PCR ürünü ve strip, cihazın sallanan platformunda, 45°C de sıcaklıkta (yaklaşık) 1ml hibridizasyon tamponu ile 20 dk inkübe edilerek strip PCR ürünü hibridizasyonu sağlandı. Hibridizasyon solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı.

2) Yıkama.

Hibridizasyon sonrasında ortamda bulunması istenmeyen PCR ürünleri ve non-spesifik bağlanma yapan oligonükleotidler kuvvetli bir yıkayıcı olan yıkama solüsyonu A (1ml) ile 45°C’de 15 dakikalık üç yıkama periyodu ile ortamdan uzaklaştırıldı.

3) Renk oluşumu.

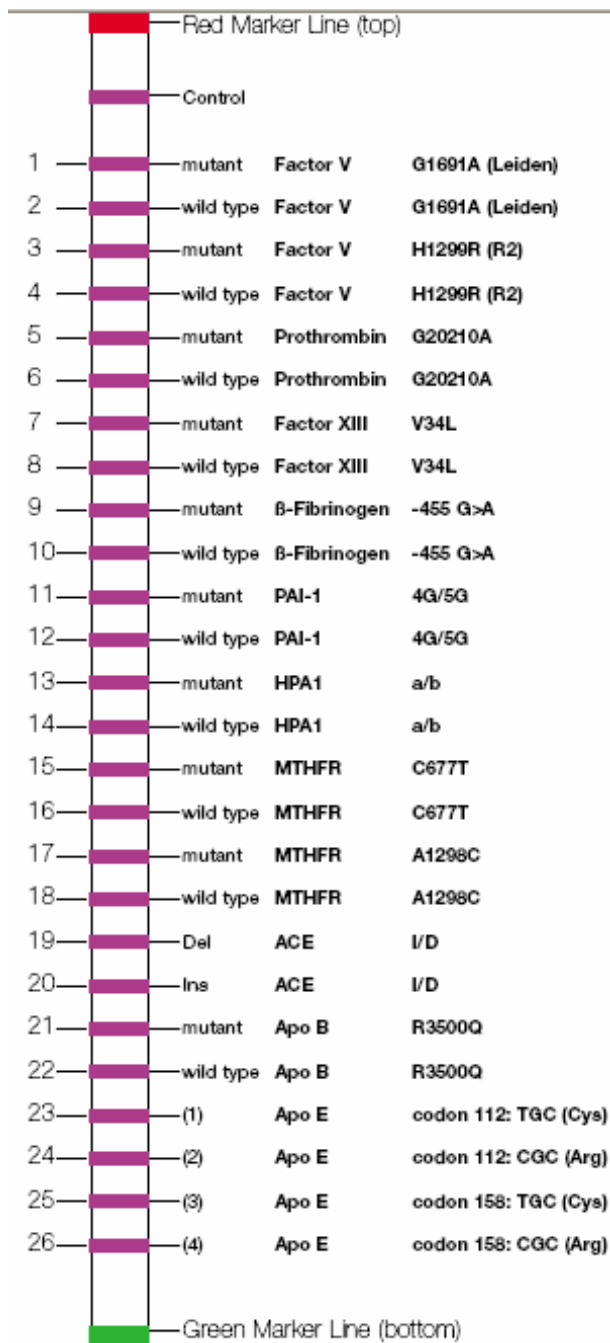
Stripler oda sıcaklığında 1ml konjugat solüsyonu ile 15 dk inkübe edilerek konjugat solüsyonu içinde bulunan streptavidin-alkalan fosfat, biyotin işaretli hibrit

DNA fragmentlerine bağlanması sağlandı. Konjuat solüsyonunun artıkları daha yumuşak bir yıkama solüsyonu olan yıkama solüsyonu B ile 10, 5 ve 5 dakikalık üç periyotta temizlendi. Strip üzerindeki hibridize olmuş bantların görülür hale gelebilmesi için ortama 1ml alkalın fosfatazın substratı olan nitro blue tetrazolium (NBT) ve 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfatdan (BCIP) oluşan renk geliştiricisi (color developer) eklendi. Oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona tabi tutuldu. Strip son olarak distile su ile yıkandı, kâğıt havlu ile kurutulduktan sonra değerlendirme tablosuna (Collector) özenle yerleştirildi.

3.7 Striplerin Değerlendirilmesi

Her stripin üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç bulunmaktadır. Bunun dışında hibridizasyon sonrası striplerin değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bantının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmadı.

Yabanıl tip gen bölgesine ait 1 prob stripin alt kısmında, mutant gen bölgesine ait 1 prob ise stripin üst kısmında sinyal verecek şekilde dizayn edilmişlerdir (Şekil 3.1). Hibridizasyon sonrası yabanıl tip bantların mevcut olduğu ve mutant gen bölgesine ait bantın bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir. Mutant gen bölgelerine ait bantda sinyal alınıyorsa sinyal alınan mutasyonun yabanıl tip koduna bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar verilir. Mutasyonun yabanıl tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olması durumunda mutasyon **heterozigot**, mevcut olmaması durumunda ise **homozigot** olarak değerlendirildi.



Şekil 3.1: CVD StripAssay (ViennaLab Vienna, Austria)

3.8 Verilerin İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

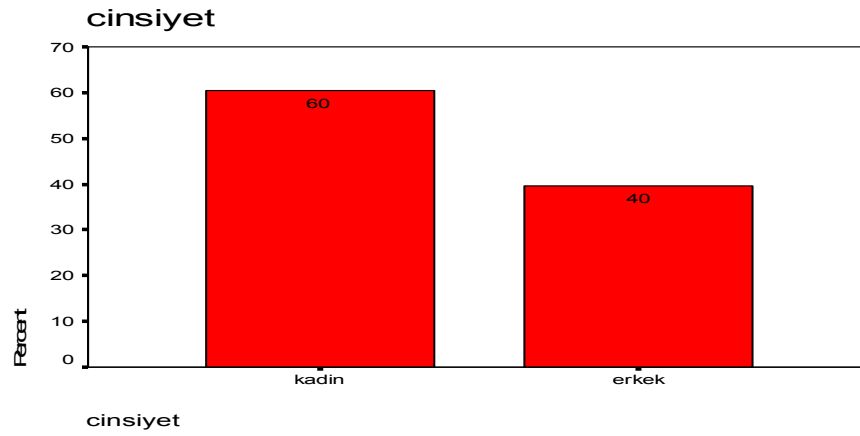
Çalışma sonucu elde edilen verilerin istatiksel olarak değerlendirilmesinde windows ortamında SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 istatiksel paket programı kullanıldı.

Araştırmaya katılan bireylerden elde edilen verilerin sayı yüzde tablolarının yanı sıra D ve I allel frekansları hesaplandı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ve gruplar arasında farklılıkların saptanmasında Ki- Kare (Chi-Square) analizi kullanılmıştır. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p \leq 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

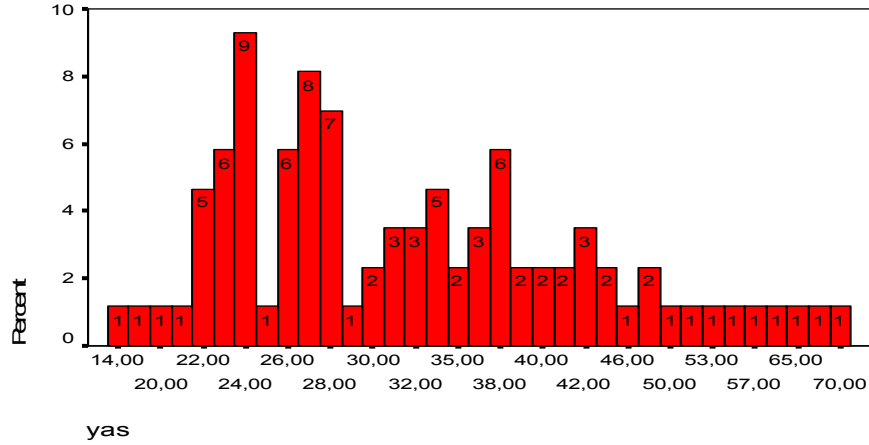
4. BULGULAR

4.1. Genetik Veriler

Çalışmamıza katılan bireylerden elde edilen veriler öncelikle ACE II, ACE ID ve ACE DD alelleri için ayrı ayrı değerlendirilmiş ve bu genotiplerin aleller içindeki ve bireyler arasındaki dağılım frekansları hesaplanmıştır. Çalışmaya katılan bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımı yapılmış ve grafikler halinde sunulmuştur. Eşeyler için alel frekansı ortaya konulmuştur..



Şekil 4.1 Çalışılan populasyondaki kadın/erkek oranı



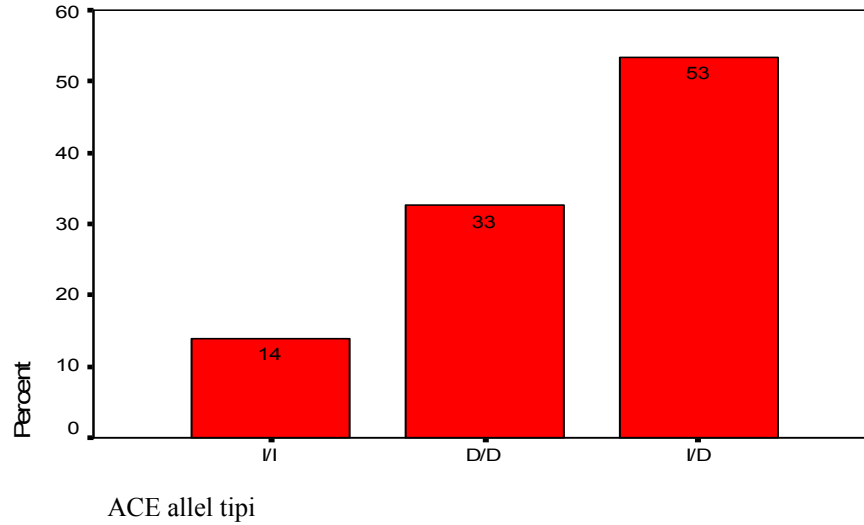
Şekil 4.2 Çalışma grubunun yaşlara göre dağılımı

ACE İnsersiyon/Delesyon polimorfizminin tüm bireyler arasındaki dağılımına

bakıldığında II genotipinde 12 kişi (%14), ID genotipinde 46 kişi (%53.5), DD genotipinde 28 kişi (%32.5) saptanmıştır. (D allel frekansı: 0.59, I allel frekansı: 0.41).

Tablo 4.1 ACE I/D polimorfizmi allel genotiplerinin bireyler arasında dağılımı.

	Sayı	Yüzde	Geçerli yüzde	Kümülatif yüzde
II	12	14	14	14
ID	46	53.5	53.5	67.5
DD	28	32.5	32.5	100.0
Toplam	86	100.0	100.0	

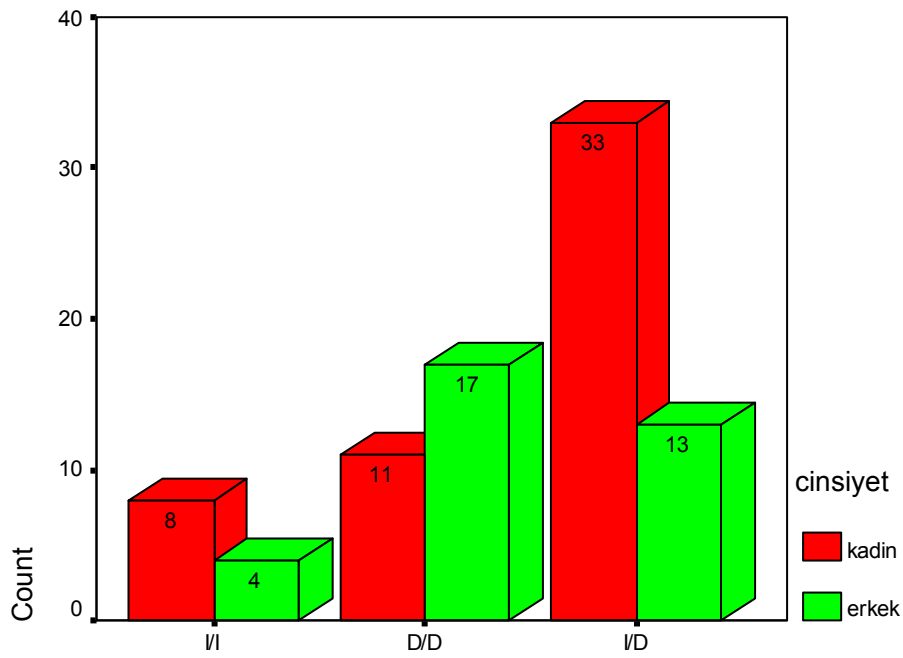


Şekil 4.3 Çalışma grubunda ACE I/D polimorfizm oranları

ACE geni I/D polimorfizminin eşeyler arasındaki dağılımını değerlendirdiğimizde, II genotipi açısından eşeyler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemişken, ID genotipin kadınlarda, DD genotipin ise erkeklerde anlamlı bir biçimde yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.2 Bireylerin eşey özellikleri ile ACE I/D allel dağılımlarının çapraz tablosu.

		ACE			Toplam	
		II	ID	DD		
Cinsiyet	Kadın	Sayı	8	33	11	52
		%	9.3 %	38.4 %	12.8 %	60.5%
	Erkek	Sayı	4	13	17	34
		%	4.7 %	15.1%	19.7 %	39.5%
Toplam		Sayı	12	46	28	86
		%	14 %	53.5 %	32.5 %	100.0%



anjiotensin converting enzim

Şekil 4.4 ACE I/D polimorfizminin eşeylere göre dağılımı

4.2. Klinik Veriler

Çalışmamıza rastgele seçilerek dahil edilen bireyler daha sonra Anjiotensin Converting Enzim İnsersiyon/Delesyon polimorfizmi ile ilişki kurulan başlıca hastalıklar yönünden geriye dönük araştırılmış, mevcut dosyaları incelenerek bu doğrultuda ekte sunulan bir anket uygulanmıştır. Bu anket doğrultusunda ACE I/D polimorfizmi ile ilişkili olarak, bu hastalıkların bireyler ve onların birinci derecede akrabalarındaki yaygınlığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Çalışma grubumuzda yer alan bireyler arasında hipertansiyon tanısı almış olguların sayısı 15 olarak tespit edilmiştir (%17.4). ACE genotipi değerlendirilen olgulardan 71 kişi nonhipertansiftir (%82.6).

Tablo 4.3 Hipertansiyon öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	71	82.6	82.6	82.6
Var	15	17.4	17.4	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Çalışma grubu hipertansiyon aile öyküsü (1. ve 2. derece akrabalarda hipertansiyon varlığı) açısından değerlendirildiğinde pozitif aile öyküsü sayısı 60 olarak tespit edildi. (%69.8).

Tablo 4.4 Hipertansiyon aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	26	30.2	30.2	30.2
Var	60	69.8	69.8	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Değişik tip ve derecelerde kardiyovasküler hastalık öyküsü bulunan birey sayısı 6 dır. (%7). 80 bireyde her hangi bir kalp anomalisi, kalp hastalığı veya kardiyak yakınma tespit edilmemiştir.

Tablo 4.5 Kalp hastalığı öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	80	93.0	93.0	93.0
Var	6	7.0	7.0	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Çalışma grubunda kalp hastalığı, kardiyak yakınmalar açısından aile öyküsü (1. ve 2.

derece akraba) 40 kişide pozitif bulunmuştur (%46.5).

Tablo 4.6 Kalp hastalığı aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	46	53.5	53.5	53.5
Var	40	46.5	46.5	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Gruptaki bireyler arasında renovasküler hastalığı mevcut olan kişi sayısı 8 dir (%9.3). Aynı kitlede, 26 kişide ailede (1. ve 2. derece akraba) renovasküler hastalık öyküsü pozitifdir. (%30.2)

Tablo 4.7 Renovasküler hastalık öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	78	90.7	90.7	90.7
Var	8	9.3	9.3	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Tablo 4.8 Renovasküler hastalık aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	60	69.8	69.8	69.8
Var	26	30.2	30.2	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Grupta diabet öyküsü olan bireye rastlanmamış olup, aynı kitlenin diabetik aile öyküsü 33 kişide pozitif olarak saptanmıştır. (%38.4).

Tablo 4.9 Diabet öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	86	100.0	100.0	100.0
Var				
Total	86	100.0	100.0	

Tablo 4.10 Diabet aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	53	61.6	61.6	61.6
Var	33	38.4	38.4	100.0
Total	86	100.0	100.0	

Çalışma grubumuzda kanser olgusu bulunmamaktadır ve bu kitlenin kanser aile öyküsü (1. ve 2. derece akraba) 40 kişide pozitif çıkmıştır. (%46.5).

Tablo 4.11 Kanser öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	86	100.0	100.0	100.0
Var				
Total	86	100.0	100.0	

Tablo 4.12 Kanser aile öyküsü olan bireylerin sayısı ve yüzdeleri.

	Sayı	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
Yok	46	53.5	53.5	53.5
Var	40	46.5	46.5	100.0
Total	86	100.0	100.0	

4.3. Genotip-Fenotip İlişkisi

Çalışmaya katılan bireyler arasında ACE genotipleri ile hipertansif olguların karşılaştırılması yapılmış ve toplam 15 hipertansif bireyin genotipleri değerlendirildiğinde II (2 olgu: %2.3), ID (5 olgu: %5.8) ve DD olguları (8 olgu: %9.3) arasında hipertansiyon oranı açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. (X^2 : 3.793 P value: 0.150).

Tablo 4.13 ACE genotipleri ile hipertansiyon olgularının karşılaştırılması

		Hipertansiyon		X ²	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	10	3.793	0.150
		%	11.6 %		
	ID	Sayı	41		
		%	47.7 %		
	DD	Sayı	20		
		%	23.3 %		
Toplam		Sayı	71		
		%	82.6 %		

Çalışma grubumuzda hipertansiyon aile öyküsünü ACE genotipleriyle karşılaştırmalı değerlendirdiğimizde ailede hipertansiyon olguları II genotipinde (5 kişi: %5.8) olan bireylere oranla ID (31 kişi: %36.0) ve DD genotipinde (24 kişi: %27.9) istatistiksel açıdan anlamlı olacak biçimde yüksek çıkmıştır. Her grubu kendi özelinde karşılaştırdığımızda DD genotipi olgularının %85 inde aile öyküsü pozitifken ID olgularında bu oran %67, II olgularında ise %41 dir. [X²: 7.991 P value: 0.018] (p<0.05).

Tablo 4.14 ACE genotipleri ile hipertansiyon aile öykülerinin karşılaştırılması

		Hipertansiyon aile öyküsü		X ²	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	7	7.991	0.018
		%	8.1 %		
	ID	Sayı	15		
		%	17.4 %		
	DD	Sayı	4		
		%	4.7 %		
Toplam		Sayı	26		
		%	30.2 %		

ACE İnsersiyon/Delesyon polimorfizmleri ile kalp hastalığı öyküsünün karşılaştırmalı değerlendirilmesi sonucunda II (1 kişi: %1.2), ID (2 kişi: %2.3)

ve DD genotipi (3 kişi: %3.5) ile kalp hastalığı oranları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. (X^2 : 1.127 P value 0.569).

Tablo 4.15 ACE genotipleri ile kalp hastalığı olgularının karşılaştırılması

		Kalp hastalığı		X^2	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	11	1.127	0.569
		%	12.8 %		
	ID	Sayı	44		
		%	51.2 %		
	DD	Sayı	25		
		%	29.1 %		
Toplam		Sayı	80		
		%	93.0 %		

ACE I/D genotipleri ile kalp hastalığı aile öyküsünün karşılaştırılması değerlendirilmesi sonucunda II (5 kişi: %5.8), ID (17 kişi: %19.8) ve DD genotipi (18 kişi: %20.9) ile kalp hastalığı oranları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. (X^2 : 5.357 P value 0.069)

Tablo 4.16 ACE genotipleri ile kalp hastalığı aile öykülerinin karşılaştırılması

		Kalp hastalığı aile öyküsü		X^2	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	7	5.357	0.069
		%	8.1 %		
	ID	Sayı	29		
		%	33.7 %		
	DD	Sayı	10		
		%	11.6 %		
Toplam		Sayı	46		
		%	53.5 %		

ACE İnsersiyon/Delesyon polimorfizmleri ile renovasküler hastalık öyküsünün karşılaştırılması değerlendirilmesi sonucunda II (0), ID (4 olgu:

%4.7) ve DD genotipi (4 olgu: %4.7) ile renovazküler hastalık oranları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. (X^2 : 5.357 P value 0.069).

Tablo 4.17 ACE genotipi ile renovazküler hastalık olgularının karşılaştırılması

		Renovazküler Hastalık		X^2	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	12	5.357	0.069
		%	14 %		
	ID	Sayı	42	4.7 %	
		%	48.8 %		
	DD	Sayı	4	4.7 %	
		%	27.9 %		
Toplam		Sayı	78	9.3 %	
		%	90.7 %		

Çalışma grubumuzda renovazküler hastalık aile öyküsünü ACE genotipleriyle karşılaştırmalı değerlendirdiğimizde ailede renovazküler hastalık oranları II genotipinde (3 kişi: %3.5) olan bireylerle DD genotipinde (14 kişi: %16.3) olan bireyler arasında istatistiksel açıdan anlamlı olacak biçimde farklı çıkmıştır. [X^2 : 7.825 P value: 0.020] ($p < 0.05$).

Tablo 4.18 ACE genotipi ile renovazküler hastalık aile öyküsünü karşılaştırılması

		Renovazküler Hastalık aile öyküsü		X^2	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	9	7.825	0.020
		%	10.5 %		
	ID	Sayı	3	10.5 %	
		%	43.0 %		
	DD	Sayı	9	16.3 %	
		%	16.3 %		
Toplam		Sayı	60	30.2 %	
		%	69.8 %		

ACE I/D polimorfizmi çalıştığımız bireylerde II, ID ve DD genotiplerinde diabet öyküsüne rastlanmamıştır.

Tablo 4.19 ACE genotipinin diabet olgularıyla karşılaştırılması

		Diabet		X ²	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	12		
		%	14.0 %		
	ID	Sayı	46		
		%	53.5 %		
	DD	Sayı	28		
		%	32.5 %		
Toplam		Sayı	86		
		%	100 %		

Çalışma grubumuzda diabet aile öyküsü açısından yapılan değerlendirmelerde ID ve DD genotipine sahip bireylerin ailelerinde diabet hastalığının mevcudiyeti (16 kişi: %18.6) II genotipine sahip bireylere (1 kişi: %1.2) oranla istatistiksel açıdan anlamlı olacak ölçüde yüksek çıkmıştır. Her grup kendi özelinde değerlendirildiğinde diabet aile öyküsü oranı, sırasıyla DD genotipinde %57.1, ID genotipinde %34.8 ve II genotipinde %8 dir. (X²: 9.001 P value: 0.011)

Tablo 4.20 ACE genotipinin diabet aile öyküsü ile karşılaştırılması

		Diabet aile öyküsü		X ²	P	
		Yok	Var			
ACE I/D	II	Sayı	11	9.001	0.011	
		%	12.8 %			1.2 %
	ID	Sayı	30			16
		%	34.9 %			18.6 %
	DD	Sayı	12			16
		%	14 %			18.6 %
Toplam		Sayı	53	33		
		%	61.6 %	38.4		

ACE I/D polimorfizmi çalıştığımız bireylerde II, ID ve DD genotiplerinde kanser öyküsüne rastlanmamıştır.

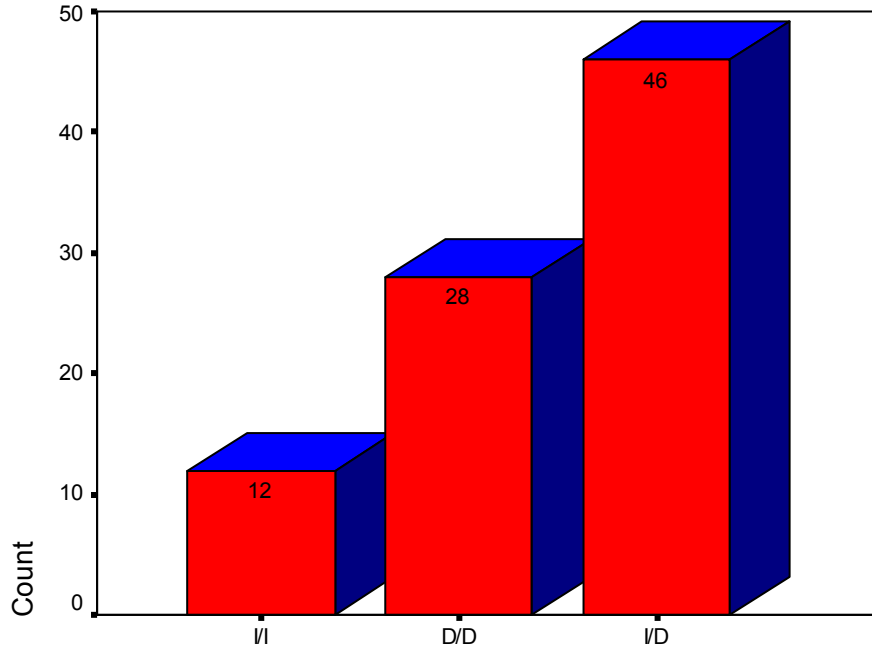
Tablo 4.21 ACE genotipinin kanser olgularıyla karşılaştırılması

		Kanser		X ²	P
		Yok	Var		
ACE I/D	II	Sayı	12		
		%	14.0 %		
	ID	Sayı	46		
		%	53.5 %		
	DD	Sayı	28		
		%	32.5 %		
Toplam		Sayı	86		
		%	100 %		

ACE I/D polimorfizmi çalışılan bireylerde kanser aile öyküsü, II olgularında 4 kişi (%4.7), ID olgularında 18 kişi (%20.9) ve DD olgularında 18 kişi (%20.9) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, akrabalarda kanser öyküsü bakımından istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

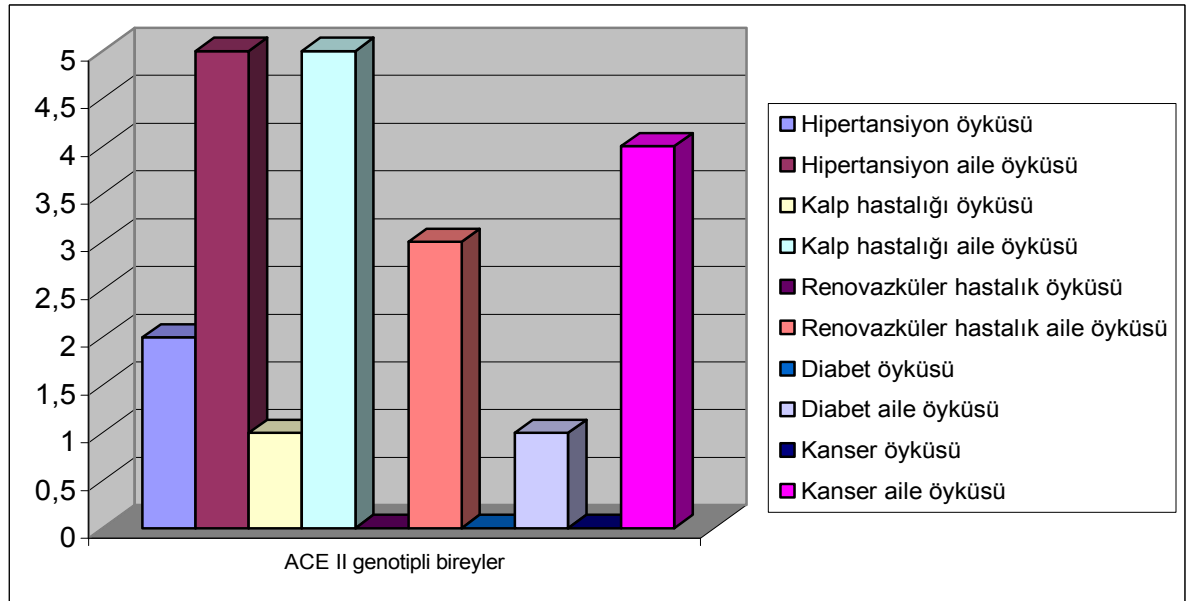
Tablo 4.22 ACE genotipinin kanser aile öyküsü ile karşılaştırılması

		Kanser aile öyküsü		X ²	P	
		Yok	Var			
ACE I/D	II	Sayı	8	5.401	0.067	
		%	9.3 %			4
	ID	Sayı	28			18
		%	32.6 %			20.9 %
	DD	Sayı	10			18
		%	11.6 %			20.9%
Toplam		Sayı	46			40
		%	53.5 %			46.5 %

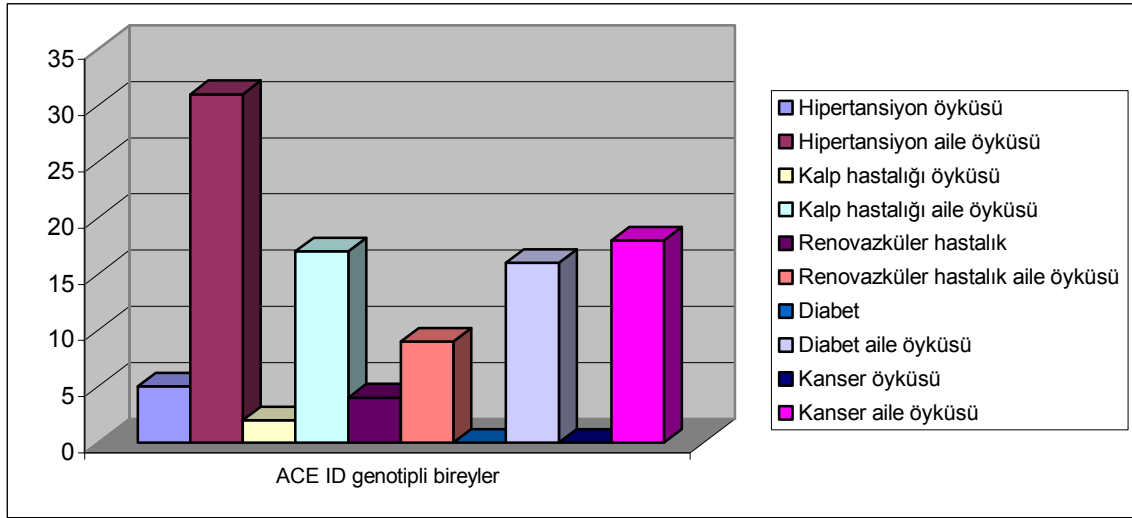


anjiotensin converting enzim

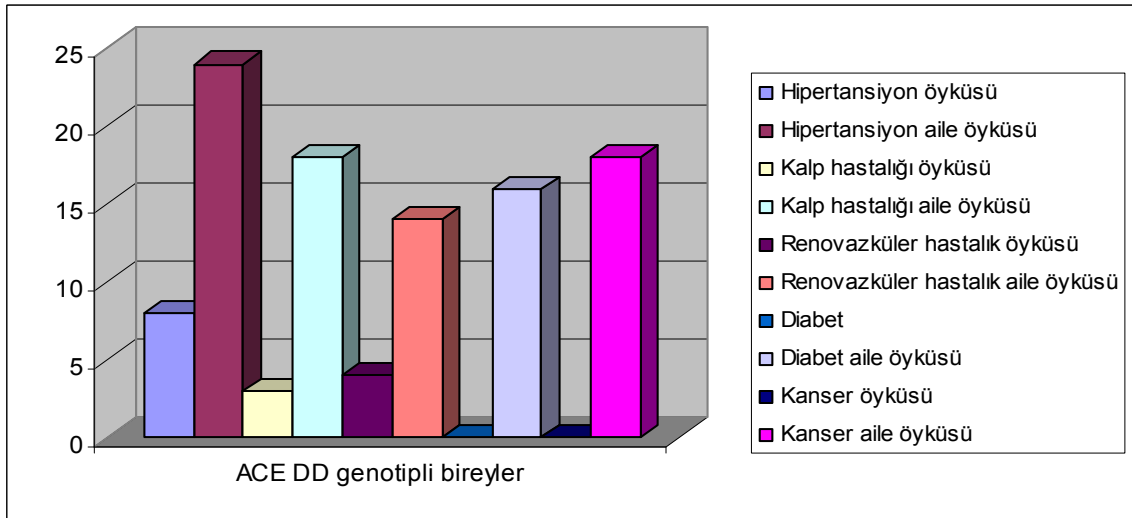
Şekil 4.5 Çalışma grubunda ACE I/D polimorfizminin sayısal dağılımı



Şekil 4.6 ACE II genotipli bireylerde hastalıkların dağılımı



Şekil 4.7 ACE ID genotipli bireylerde hastalıkların dağılımı

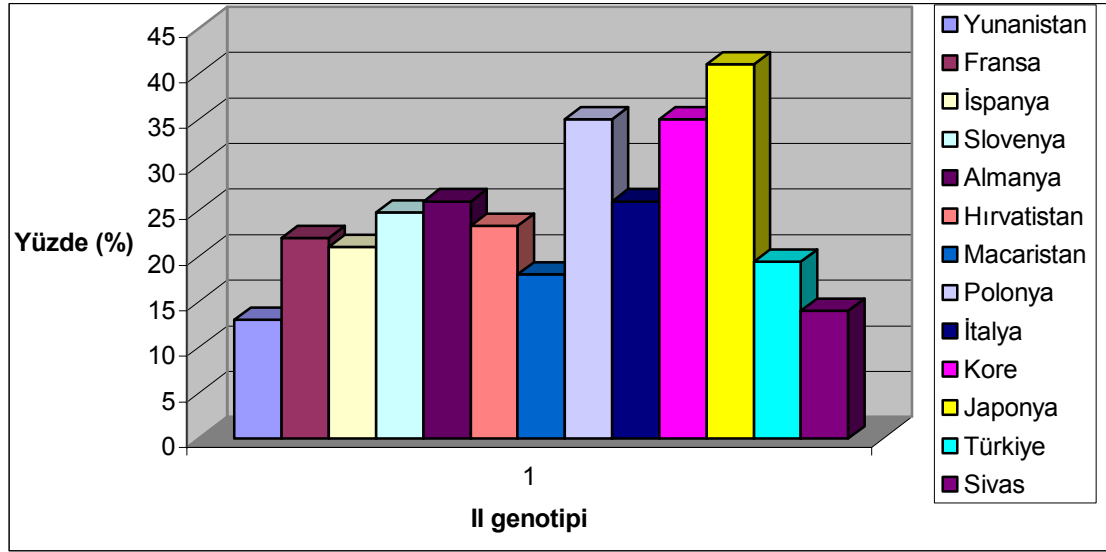


Şekil 4.8 ACE DD genotipli bireylerde hastalıkların dağılımı

4.4. Polimorfizm Frekanslarının Diğer Çalışmalarla Karşılaştırılması

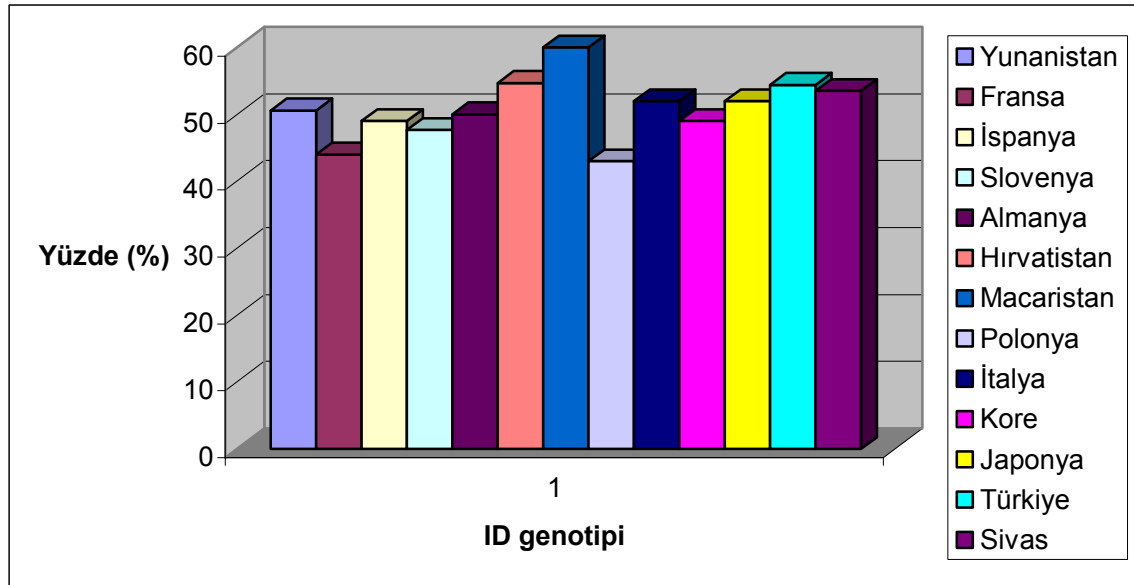
ACE İnsersiyon/Delesyon polimorfizmi konusunda Avrupa ve Asya ülkeleri ile Türkiye ve Sivas arasında bir kıyaslama yaptığımızda karşımıza aşağıdaki sonuçlar çıkmıştır.

I/I genotipi Japonya ve Kore gibi uzak doğu ülkelerinde Avrupa'ya oranla daha yüksektir (85). Türkiye verileri Avrupa ülkelerine yakın bir oran ortaya koymaktadır (32). Sivas ilimizde de oran düşüktür ve Türkiye değerlerine yakındır.



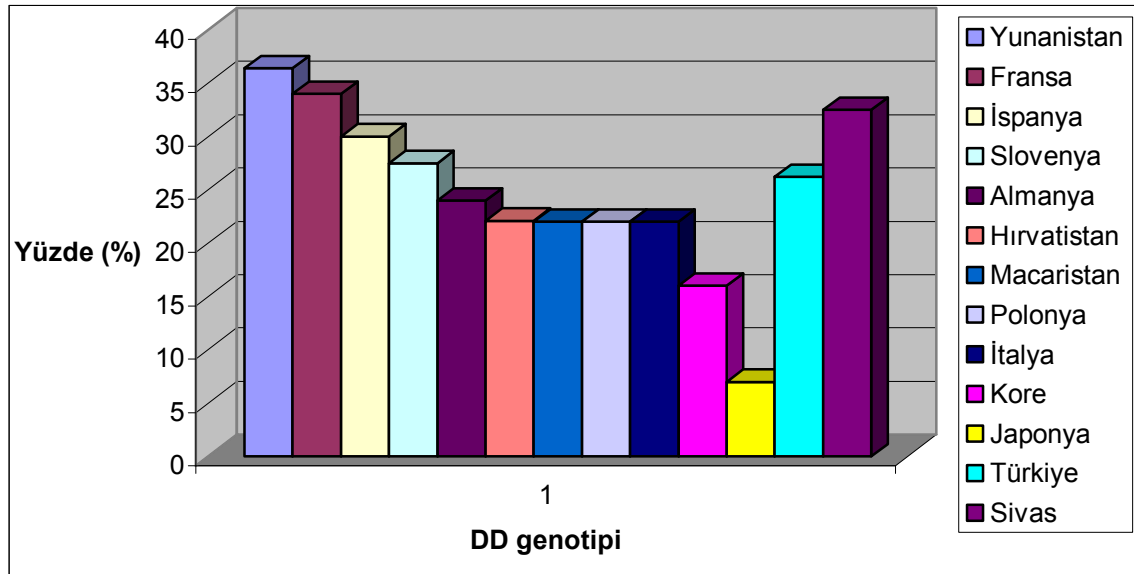
Şekil 4.9 ACE II genotipinin ülkeler arası dağılımı

ID genotipi gerek Avrupa ülkelerinde gerekse Japonya ve Kore gibi uzak doğu ülkelerinde büyük farklılıklar göstermemektedir. Her ülkede ACE I/D polimorfizmi açısından en yüksek oran I/D heterozigotesinde saptanmıştır (85). Türkiye verileri ve Sivas bölgemizde yaptığımız çalışma bu sonuçlarla uyumludur.



Şekil 4.10 ACE ID genotipinin ülkeler arası dağılımı

ACE DD genotipi Yunanistan, Fransa, İspanya gibi Avrupa ülkelerinde Asya ve uzak doğu ülkelerine oranla yüksek seyretmektedir. (85). Türkiye ve Sivas dağılımları Avrupa ülkelerine yakındır.



Şekil 4.11 ACE DD genotipinin ülkeler arası dağılımı

Öte yanda, uluslar arası çalışmalarda değişik hastalıklar için ACE genotipinin dağılım yüzdelelerini değerlendirdiğimizde, çok sayıda hastalıkta DD genotipinin belirgin biçimde diğer polimorfizmlere oranla yüksek olduğunu görmekteyiz. Araştırmacılar söz konusu hastalıklarla D allel frekansının bağlantılı olduğunu, kimi hastalıklarda bu allelin bağımsız bir markır olarak ele alınabileceğini öne sürmektedirler. Değişik çalışmalarda DD allel frekansı insülin bağımsız diyabette 0.69, gastrik kanserde 0.67, inme olgularında 0.62, migrende 0.66, adult respiratuar distres sendromunda (ARDS) 0.69, Multipl sklerozda (erkek olgularda) 0.62, sistemik sklerozda 0.61, erektil disfonksiyonda 0.64 ve sistemik lupus eritematosus (SLE) hastalığında 0.64 olarak tespit edilmiştir. İlginç olarak, akciğer kanserinde gastrik kanserin tersine I allel frekansının yüksek olduğu görülmektedir. (Bkz. Tablo 4.23).

Tablo 4.23 Klinik olgularda ACE genotipinin dağılım oranları.

Hastalıklar	D allel frekansı	DD genotipi	ID genotipi	II genotipi	Kaynak
Hipertansiyon	0.52	%30.5	%43	%26.5	(24)
NIDDM	0.56	%26.2	%58.3	%15.5	(38)
Kalp yetmezliği	0.56	%28	%54.5	%17.5	(86)
KAH	0.56	%27.3	%59	%13.7	(58)
Renal hastalık	0.56	%32.8	%46.4	%20.8	(30)
Gastrik Kanser	0.67	%41	%52	%7	(65)
Akciğer Kanseri	0.48	%25.3	%45.1	%29.6	(67)
Sarkoidoz	0.58	%33.3	%50	%16.7	(73)
Stroke	0.62	%33.3	%57.3	%9.4	(80)
Migren	0.66	%48.3	%35.2	%16.5	(81)
ARDS	0.69	%46	%45	%9	(84)
Sistemik skleroz	0.61	%34	%53	%13	(87)
VUR	0.54	%27.6	%52.4	%20	(88)
Erektıl disfonk.	0.64	%54	%19	%27	(82)
SLE	0.64	%50	%28	%22	(83)
Behçet hastalığı	0.56	%24.5	%62.2	%13.3	(89)
Multipl Skleroz	0.62 (E)	%37.8 (E)	%47.8 (E)	%14.4 (E)	(74)
Preeklampsi	0.50	%21.1	%54.4	%21.5	(90)

5. TARTIŞMA

Anjiotensin Converting (Dönüştüren) Enzim (ACE), hem renin-anjiotensin-aldosteron sistemi (RAAS) hem de kinin kallikrein sisteminde anahtar konumunda bir enzim olması nedeniyle başta kardiyovasküler ve üriner sistem olmak üzere organizmadaki bir çok sistemi veya süreci doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyen bir enzimdir. Bir yanda anjiotensin I'i potent bir vazokonstriktör olan ve adrenal korteksten aldosteron salınımına yol açan anjiotensin II'ye dönüştürürken diğer yanda vazodilatatör etkili bradikininin yıkılmasını sağlamaktadır. Bu enzimin bilinen iki polimorfizmi (İnsersiyon / Delesyon) enzim aktivitesini spesifik olarak regüle etmekte olup organizmadaki fizyolojik ve fizyopatolojik süreçleri değişik boyutlarda etkilemektedir.

Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE) İnsersiyon/Delesyon gen polimorfizmi sıklığı dünya üzerinde değişik bölgelerde değişik oranlar ortaya koymaktadır. Bölgemiz dahilinde yaptığımız çalışma sonucunda 86 kişilik grupta ACE I/D polimorfizmi allel sıklığı sırasıyla ID genotipi için %53.5 (46 kişi), DD genotipi için %32.5 (28 kişi) ve II genotipi için %14 (12 kişi) olarak tespit edilmiştir. Sivas ve periferi için D allel frekansı 0.59 ve I allel frekansı 0.41 olarak saptanmıştır. Bölgemize dönük elde ettiğimiz bu değerler başta Yunanistan, Fransa ve İspanya olmak üzere Avrupa ülkeleriyle uyumludur. Japonya ve Kore gibi uzak doğu ülkelerinde Avrupa'ya oranla DD genotipi belirgin olarak daha düşük, II genotipi ise daha yüksektir.

ACE serum düzeyleri hipertansif olgularda normotansiflere oranla daha yüksek seyretmekte ve ayrıca hipertansif olgularda ACE ile kan basıncı arasında ılımlı bir korelasyon göze çarpmaktadır. Bu veriler ACE DD genotipinin şiddetli hipertansiflerde ve pozitif aile öyküsü olan olgularda predispozan bir etkiye sahip olduğunu, bu bağlamda da ACE'nin hipertansiyon için bağımsız faktörlerden biri olabileceğini düşündürmekle birlikte (16) kayda değer sayıda çalışma ACE genotipi ile hipertansiyon ilişkisinin kadınlarda değil ama erkeklerde göz önüne alınması gereken bir husus olduğunu öne sürmektedir (22, 23).

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler bölgemize dönük allel sıklığı

konusunda bir fikir vermekle birlikte bölgemiz kapsamında ACE I/D polimorfizmi ile hipertansiyon arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir bağlantı ortaya koymamaktadır. Öte yanda aynı bireylerde hipertansiyon açısından aile öyküsü değerlendirilmeye alındığında D alelinin olduğu bireylerde aile öyküsü anlamlı biçimde yüksek çıkmıştır.

ACE I/D polimorfizmini sol ventrikül hipertrofisi, kalp kitlesi ve fonksiyonları ile ilişkilendiren değişik çalışmalar vardır (47-49). Koroner arter hastalığı ile ACE genotipi arasında bir bağlantı konusunda da çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu konu tartışmalı olup kardiyak disfonksiyonla ilişkili olmadığını ifade eden çok sayıda çalışma da mevcuttur (50-53). Dr. Akbulut ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sonuçlar ACE D/D genotipi ve D alelinin erken koroner arter hastalığı gelişiminde rolü olmadığını düşündürmektedir. (58). Bizim çalışmamızda, gerek bireyler, gerekse bu bireylerin kalp hastalığı açısından aile öyküleri ACE I/D polimorfizmi ile kardiyak disfonksiyonlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir bağlantı vermemektedir.

ACE I/D polimorfizminin renal fonksiyonlara ve renal hastalıklara etkisi konusunda değişik görüşler mevcuttur. Samuelsson ve arkadaşları nondiyabetik, ilerleyici kronik böbrek hastalıklarında DD polimorfizminde ID ve II grubuna oranla böbrek fonksiyonlarındaki azalmanın daha belirgin olduğunu ve daha hızlı seyrettiğini ayrıca DD polimorfizminin erkek hastalarda –ama kadınlarda değil- böbrek fonksiyonlarında daha hızlı azalmanın önemli bir prediktörü olduğunu ortaya koydular (30). Çok değişkenli regresyon analizi ile gerçekleştirilen bir çalışma sonucuna göre ACE gen polimorfizmi DD genotipi düşük gradeli VUR olgularında renal skarlaşma açısından büyük bir risk faktörüdür (32). Öte yanda renal malformasyonlar temel alınarak gerçekleştirilen çalışmalar (33) ACE DD genotipinin konjenital renal malformasyonlarda progresif KBY gelişimi açısından önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır. Hindistandaki bir çalışmada ise II genotipinin steroid sensitif nefrotik sendrom olgularıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.

Çalışmamıza katılan bireylerde renovasküler hastalıklarla ACE genotipi arasında bir bağlantı tespit edilmemiştir. Bu durum, katılan kişilerin rastlantısal olarak genç yaş ağırlıklı olmasıyla açıklanabilir. Ancak bu bireylerin taşıdıkları polimorfizmlerle renovasküler hastalık açısından aile öyküleri arasında anlamlı bir ilişki

açığa çıkmıştır. Renovasküler hastalık aile öyküsü pozitif olgular DD genotipinde (%16.3) II genotipi (%3.5) ve ID genotipine (%10.5) oranla daha yüksektir.

Hindistan'da ACE gen polimorfizminin diabete eğilimi artırıp artırmadığına dair araştırma yapan Bhavani ve arkadaşları D alelinin diabete karşı koruyucu olduğunu rapor ederken (37) aynı temelde, İngiltere'de insülin rezistansı ile ACE genotipi üzerine yapılan bir çalışmada, ACE geni D alelinin artmış duyarlılıkla ilişkili olduğu rapor edilmektedir (38). Öte yanda, bu düşüncelerin tersine, 2004 yılında İngiltere'de tip 2 diabetes ile ACE gen polimorfizminin bağlantısını araştıran Stephens ve arkadaşları, tip 2 diabetes olgularında D alel frekansını daha yüksek bulmuşlar ve DD alel sahiplerinde II alele oranla diabetik aile öyküsünün de daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (39). Bizim sonuçlarımız İngiltere'de gerçekleştirilen bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Çalışma grubumuzda diabetes aile öyküsü (1. ve 2. derece akraba) açısından yapılan değerlendirmelerde ID ve DD genotipine sahip bireylerin ailelerinde diabetes hastalığının mevcudiyeti (%18.6) II genotipine sahip bireylere (%1.2) oranla istatistiksel açıdan anlamlı olacak ölçüde yüksek çıkmıştır. Her grup kendi özelinde değerlendirildiğinde diabetes aile öyküsü oranı, sırasıyla DD genotipinde %57.1, ID genotipinde %34.8 ve II genotipinde %8 dir.

ACE genotipi ile kanser arasında bir bağlantının olup olmadığına dair çok sayıda çalışma yapılmıştır. P. Matthias ve arkadaşlarının erken gastrik kanser olguları (65) ve W. Koh ve arkadaşlarının göğüs kanseri olguları (66) üzerine yaptıkları çalışmalar bu maligniteye maruz bireylerde DD genotipinin daha yüksek oranda var olduğunu göstermekte ve II alelinin düşük risk profili oluşturduğunu düşündürmektedir. Öte yanda A. J. Cohen ve arkadaşlarının kıyaslamalı olarak 91 hasta (78 erkek ve 13 dişi, SCLC = 10, squamous = 37, adeno = 32, misc = 12) ve 25 sağlıklı kontrol grubunda gerçekleştirdikleri çalışma bu sonuçlarla çelişmektedir. Cohen'in çalışması akciğer kanserli hastalarda daha yüksek I/I genotipinin varlığını göstermektedir (67). Bu bağlamda, II genotipinin düşük serum ACE düzeyi ile ilişkili olduğunu, düşük serum ACE düzeyinin de akciğer kanserine predispozisyon oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak bu hipotez, anjiotensin II'nin

mitojenik etkisi ile çelişmektedir.

Sivas bölgesinde gerçekleştirdiğimiz çalışmada, ACE I/D polimorfizmi çalışılan bireylerde kanser aile öyküsü, II olgularında %4.7, ID olgularında %20.9 ve DD olgularında %20.9 olarak tespit edilmiştir. Tür ayrımı yapılmaksızın kanser aile öyküsü DD homozigot bireylerde daha yüksek çıkmıştır. Bununla birlikte elde edilen veriler, akrabalarda kanser öyküsü bakımından istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE) İnsersiyon/Delesyon gen polimorfizminin sıklığının dünya üzerindeki bölgeler bazında değişik oranlara sahip bulunduğu görülmekte olup, bu polimorfizmin kardiyovasküler ve renal fonksiyonlar başta olmak üzere organizmadaki tüm sistemleri ve bu sistemlerin performansını etkilediğini söyleyebilmekteyiz. Nitekim dünya üzerinde yapılan değişik çalışmalarda bazı kanser türleri, migren, sistemik lupus eritematosus (SLE), tip 2 diabet, sistemik skleroz, erektil disfonksiyon, inme (stroke), adult respiratuar distres sendromu (ARDS) gibi değişik sistemleri ilgilendiren önemli sayıda hastalıkta DD allel frekansı yüksek çıkmıştır. Çalışmamızda ACE genotipinin değişik hastalıklarla ilişkisi aile öyküleri de dikkate alınarak değerlendirildiğinde benzer eğilimleri ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, I/D polimorfizminin hipertansiyon, kardiyak bozukluklar, koroner hastalıklar, renal patolojiler, maligniteler ve değişik sistematik bozukluklarla ilişkisini aydınlatmak için daha çok sayıda, daha geniş grupları içeren ve bölgesel özellikleri ve farklılıkları göz önüne alan çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR

1) ACE I/D polimorfizmi için yapılan değerlendirmeler sonucunda erkek (n=34) ve dişi (n=52) bireyler arasında allel frekansının farklı olduğunu belirledik. Erkeklerde yoğunlaşma DD genotipinde gözlenirken [17 (%50)] dişilerde en yüksek oranda ID genotipi tespit edilmiştir.[33 (%63)]. Erkeklerde ID genotipi 13 (%38), dişilerde DD genotipi ise 11 (%21) oranında çıkmıştır. II genotipi her iki eşeyde de en düşük oranda tespit edilen genotiptir. II genotipi oranları, erkeklerde 4 (%12), dişilerde 8 (%15) dir.

2) Çalışma sonucunda elde edilen verilerde ACE geni I/D polimorfizmi ile hipertansiyon açısından anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Ancak delesyon aleli, hipertansiyon aile öyküsü olan bireylerde anlamlı olacak biçimde yüksek çıkmıştır. Hipertansiyon aile öyküsü DD grubunda 24 (%85), ID grubunda 31 (%67), II grubunda 5 (%41) oranındadır. (X^2 : 7.991 P value: 0.018).

3) ACE I/D polimorfizmi ile bireyin kendisinde kalp hastalığı [II: 1 (%1.2), ID: 2 (%2.3), DD: 3 (%3.5)] ve bireyin kalp hastalığı aile öyküsü [II: 5 (%5.8), ID: 17 (%19.8), DD: 18 (%20.9)] bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

4) ACE I/D polimorfizmi ile renovasküler hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki tespit edilemezken, söz konusu polimorfizm ile renovasküler hastalık aile öyküsü olan bireylerden II genotipi (%33) ve ID genotipi (%24) ile DD genotipi (%50) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık söz konusudur. (X^2 : 7.825 P value: 0.020 $p < 0.05$).

5) ACE I/D polimorfizminin diabet açısından değerlendirilmesinde gruplar arasında bir farklılık bulunmamıştır. Her üç grupta diabet öyküsüne rastlanmamıştır. Diabet konusunda aile öyküleri göz önüne alındığında ID ve DD genotiplerinde aile pozitifliği II grubuna oranla anlamlı ölçüde yüksek çıkmıştır. DD: (%57.1), ID: (%34.8), II: (%8). (X^2 : 9.001 P value: 0.011 $p < 0.05$)

6) ACE I/D polimorfizmi çalıştığımız bireylerde kanser öyküsüne rastlanmamıştır. ACE I/D polimorfizmi çalışılan bireylerde kanser aile öyküsü, II olgularında %4.7,

ID

olgularında %20.9 ve DD olgularında %20.9 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar, akrabalarda kanser öyküsü bakımından istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

7) ACE I/D genotipinin dağılım frekansları açısından Avrupa ülkeleri ve Türkiye arasında benzerlik söz konusudur. ID genotipi tüm dünya üzerinde en sık karşılaşılan polimorfizm olarak görülmektedir. (Almanya: %50, Yunanistan: %50.6, İspanya: %49, Hırvatistan: %54.7, İtalya: %52, Japonya: %52, Kore: %49, Türkiye: %54). II genotipi Avrupa ülkelerinin çoğunda ve Türkiye’de en düşük sıklıktaki polimorfizmdir. (Almanya: %26, Yunanistan: %13, İspanya: %21, Hırvatistan: %23.3, İtalya: %26, Türkiye: %19.4). Asya ve Uzak Doğu ülkelerinde bu genotipin oranı bir hayli artmaktadır. (Kore: %35, Japonya: %41). Aynı bağlamda, DD genotipinin frekansı bu ülkelerde Avrupa ülkelerine oranla belirgin olarak daha düşüktür. Sivas bölgemiz polimorfizm dağılım frekansları bakımından Avrupa ile uyumludur. (ID: %53.5, DD: %32.5, II: %14).

8) Çalışmamızda elde edilen sonuçlar Türkiye’de elde edilen sonuçlarla genel olarak benzeşmekle birlikte, Sivas bölgesinde DD homozigozitesi (%32.5) Türkiye oranına (26.2) göre biraz daha yüksek II homozigozitesi ise (Sivas: %14, Türkiye. %19.4) aynı bağlamda daha düşüktür.

7. ÖNERİLER

- 1) Yaptığımız çalışma, Sivas popülasyonunda ACE gen polimorfizmlerinin dağılımı hakkında Avrupa ve Türkiye ile uyumlu ipuçları vermekle birlikte daha ayrıntılı ve daha kati sonuçların elde edilebilmesi için daha geniş çalışmaların yapılması uygun olacaktır.
- 2) ACE İnsersiyon / Delesyon gen polimorfizminin hipertansiyon etiolojisindeki yeri tartışmalıdır. Kimi çalışmalar bu polimorfizmi hipertansiyon olgusunun ana unsurlardan biri sayarken kimi araştırmalar direk bir ilişki olmadığını veya yalnız erkek hipertansiflerde bir bağlantının olduğunu ifade etmektedir. İleri dönemde coğrafya, iklim, diyet ve seks gibi çoklu değişkenler de göz önüne alınarak ACE gen polimorfizmi ve hipertansiyon bağlantısı daha geniş çaplı araştırılmalı ve bu polimorfizmin hipertansiyon ve diğer kardiyovasküler hastalıklar patogenezindeki yeri daha açık olarak belirlenebilmelidir.
- 3) Kanser gelişimi ve kanser seyri ile ACE I/D gen polimorfizminin olası ilişkisini değerlendirebilmek için onkoloji ünitelerinde geniş katımlı ve kontrol ve takibi olanaklı değişik tipte kanser olguları ile çalışma grupları oluşturulması ve moleküler tetkik ve taramaların yapılması yararlı olabilir.
- 4) Değişik türde böbrek hastalıklarının hem etiolojisinde ve hem de prognozunda özellikle DD genotipinin katkısı olduğu görülmektedir. Çocuklarda vezikoureteral reflü (VUR) tablosu ve diğer bazı doğuşsal veya edinsel böbrek patolojilerinin seyrinde ACE I/D polimorfizminin olası katkısı önemlidir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde, hastaların böbrek ve diğer değişik organ sistemlerinin etkilenimi ve direnci ACE gen polimorfizmi ile ilişkilendirilmektedir. Başta diyaliz üniteleri olmak üzere nefroloji ve pediatrik nefroloji kliniklerinde gerçekleştirilecek kolektif çalışmalar, hem bölgemiz özelinde hem genel anlamda böbrek hastalıklarının takip ve tedavisinde yeni açılımlar sağlayabilir. ACE gen polimorfizmi temelinde hastaların tedavisi ve takibi özgünlük kazanabilir.
- 5) Diabet multifaktöriyel bir hastalıktır. Türüne göre hem genetiğin hem immünitinin

değişik oranlarda katıldığı ve diyet ve sosyal ve kültürel özellikler gibi çevresel faktörlerin hastalığa eşlik ettiği bilinmektedir. Bölgemiz özelinde bir diabet profili çıkarılmalı ve hastalar hem etiyolojik hem de prognoz açısından ACE gen polimorfizmi ve diğer kalıtsal özellikler açısından taranmalı, bu temelde diabetin olası genetik mekanizmaları aydınlatılmalıdır.

8. KAYNAKLAR

- 1- Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, Patil N. et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. **National Genetics** 22 (3): 231-238, 1999.
- 2- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt S C. et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. **Nature** 409: (6822) 928–933, 2001.
- 3- Mitchison N A. Polymorphism in regulatory gene sequences. **Genome Biology** 2 (1): 1-6, 2001.
- 4- Hall H G. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Analyses: Distinguishing African and European Honey Bees. **Methods in Molecular Biology** 50: 333-366, 1995.
- 5- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting **Nucleic Acids Research** 23 (21): 4407-4414, 1995.
- 6- Chang C, Chang Y, Underwood A, Chiou C, Kao C. VNTRDB: a bacterial variable number tandem repeat locus database. **Nucleic Acids Research** 35: 416-421, 2007.
- 7- Mirabello L, Vineis J H, Yanoviak S P, Scarpassa V M. Microsatellite data suggest significant population structure and differentiation within the malaria vector *Anopheles darlingi* in Central and South America **BMC Ecology** 8 (10): 1186-1472, 2008.
- 8- Antler C. A brief tour of DNA fingerprinting **The Science Creative Quarterly** 3: 2003.
- 9- Brewster U C, Perazella M A. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease **The American Journal of Medicine** 116 (4): 263-272, 2004.
- 10- Bernstein K E. Views of the Renin–Angiotensin System. **Hypertension** 47 (3): 509-514, 2006.
- 11- Merlo J, Bengtsson K, Ulf B, Lennart L. et al. Multilevel analysis of systolic blood pressure and ACE gene I/D polymorphism in 438 Swedish families. A public health perspective. **BMC Medical Genetics** 7: 14. 2006.

- 12- Ponda M P, Hostetter T H. Aldosterone Antagonism in Chronic Kidney Disease **Clinical Journal of American Society of Nephrology** 1: 668-677, 2006.
- 13- Brown N J, Vaughan D E. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors **Circulation** 97 (14): 1411-1420, 1998.
- 14- Crisan D, Carr J. Angiotensin I-Converting Enzyme Genotype and Disease Associations. **Journal of Molecular Diagnostics** 2 (3): 2000.
- 15- Bell C G, Meyre D, Petretto E, Marchal C L, Hercberg S, Charles M A, Boyle C, Weill J, Tauber M, Mein C A, Aitman T J, Froguel P, Walley A J No contribution of angiotensin-converting enzyme (*ACE*) gene variants to severe obesity: a model for comprehensive case/control and quantitative cladistic analysis of *ACE* in human diseases **European Journal of Human Genetics** 15: 320-327, 2007
- 16- Bedir A, Arik N, Adam B, Kılınc K, Gumus T, Guner E. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and activity in Turkish patients with essential hypertension. **American Journal of Hypertension** 12 (10): 1038-43, 1999.
- 17- Yıldız A, Yazıcı H, Çine N, Kazancıoğlu R, Akkaya V, Sever M Ş, Ark E, Ünaltuna N E Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and development of post-transplant erythrocytosis **Journal of Nephrology** 16 (3): 399-403 2003.
- 18- Shigeyuki Wakahara, Tadashi Konoshita, Shinichi Mizuno, Makoto Motomura et al. Synergistic Expression of Angiotensin-Converting Enzyme (*ACE*) and *ACE2* in Human Renal Tissue and Confounding Effects of Hypertension on the *ACE* to *ACE2* Ratio **Endocrinology** 148 (5): 2453-2457, 2007.
- 19- Winkelmann B R, Nauck M, Klein B, Russ A P, Böhm B O, Siekmeier R, Ihnken K, Verho M, Grobete W, März W. Deletion Polymorphism of the Angiotensin I-Converting Enzyme Gene Is Associated with Increased Plasma Angiotensin-Converting Enzyme Activity but Not with Increased Risk for Myocardial Infarction and Coronary Artery Disease **Annals of Internal Medicine** 125 (1): 19-25, 1996.
- 20- Zee R Y, Morris B J, Schrader A P. Different frequencies of angiotensin-converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. **Journal of Clinical Investigations** 94 (3): 1085–1089, 1994.
- 21- Frossard P M, Obinech E N, Elshahat Y I, Lestringant G G. Deletion

- polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene is not associated with hypertension in a Gulf Arab population **Clinical Genetics** 51 (3): 211-213, 1997.
- 22-** O'Donnell C J, Lindpaintner K, Larson M G, Rao V S, Ordovas J M, Schaefer E J, Myers R H, Levy D. Evidence for Association and Genetic Linkage of the Angiotensin-Converting Enzyme Locus With Hypertension and Blood Pressure in Men but Not Women in the Framingham Heart Study **Circulation** 97:1766-1772, 1998.
- 23-** Higaki J, Baba S, Katsuya T, Sato N, Ishikawa K, Mannami T, Ogata J, Ogihara T. Deletion Allele of Angiotensin-Converting Enzyme Gene Increases Risk of Essential Hypertension in Japanese Men. **Circulation** 101: 2060-2065, 2000.
- 24-** Bhavani B A, Padma T, Sastry S, Reddy N K. Gender Specific Association of Insertion/ Deletion Polymorphism of the Human Angiotensin Converting Enzyme Gene with Essential Hypertension. **International Journal of Human Genetics** 4 (3): 207-213, 2004.
- 25-** van der Kleij F G H., de Jong P E., Henning R H., de Zeeuw D., Navis G. Enhanced responses of blood pressure, renal function and aldosterone to angiotensin I in DD genotype are blunted by low sodium intake. **Journal of the American Society of Nephrology** 13: 1025-1033, 2002.
- 26-** Siani A, Russo P, Cappuccio F P, Iacone R, Venezia A, Russo O, Barba G, Iacoviello L, Strazzullo P. Combination of Renin-Angiotensin System Polymorphisms Is Associated With Altered Renal Sodium Handling and Hypertension. **Hypertension** 43:598-602, 2004.
- 27-** Dell'Omo G, Penno G, Pucci L, Lucchesi D, Del Prato S, Pedrinelli R, ACE gene insertion/deletion polymorphism modulates capillary permeability in hypertension. **Clinical science** 111: 357-364, 2006.
- 28-** Pedrinelli R, Dell'Omo G, Penno G, Di Bello V, Pucci L, Fotino C, Lucchesi D, Del Prato S, Dal Fiume C, Barlassina C, Cusi D. Alpha-adducin and angiotensin-converting enzyme polymorphisms in hypertension: evidence for a joint influence on albuminuria. **Journal of Hypertension** 24 (5): 931-7, 2006.
- 29-** Sciarrone M T, Stella P, Barlassina C, Manunta P, Lanzani C, Bianchi G, Cusi D. ACE and Adducin Polymorphism as Markers of Individual Response to Diuretic

Therapy. **Hypertension** 41:398-403, 2003.

30- Samuelsson O, Attman P, Larsson R, Mulec H, Rymo L, Weiss L, Ricksten A. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in non-diabetic renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation** 15 (4): 481-486, 2000.

31- Cho S J, Lee S J. ACE gene polymorphism and renal scar in children with acute pyelonephritis. **Pediatric Nephrology** 17 (7): 491-495, 2002.

32- Erdoğan H, Mir S, Serdaroğlu E, Berdeli A, Aksu N. Is ACE gene polymorphism a risk factor for renal scarring with low-grade reflux? **Pediatric Nephrology** 19 (7): 734-737, 2004.

33- Hohenfellner K, Wingen A, Nauroth O, Wüh E, Mehls O, Schaefer F. Impact of ACE I/D gene polymorphism on congenital renal malformations **Pediatric Nephrology** 16 (4): 356-361, 2001.

34- Dixit M, Mansur A, Dixit N, Gilman J, Santarina L, Glicklich D. The role of ACE gene polymorphism in rapidity of progression of focal segmental glomerulosclerosis. **Journal of Postgraduate Medicine** 48 (4): 266-269, 2002.

35- Sasongko T H, Sadewa A H, Kusuma P A, Damanik M P, Lee M J, Ayakı H, Nozu K, Goto A, Matsuo M, Nishio H. ACE Gene Polymorphism in Children with Nephrotic Syndrome in the Indonesian Population. **Kobe Journal of Medical Science** 51 (3): 41-47, 2005.

36- Patil S J, Gulati S, Khan F, Tripathi M, Ahmed M, Agrawal S. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in Indian children with steroid sensitive nephrotic syndrome. **Indian Journal of Medical Sciences** 59 (10): 431-435, 2005.

37- Bhavani B A, Padma T, Reddy N K, Nausheen K. The Insertion/ Deletion polymorphism of Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Gene Increase the Susceptibility to Hypertension and / or Diabetes. **International Journal of Human Genetics** 5 (4): 247-252, 2005.

38- Panahloo A, Andrès C, Mohamed-Ali V, Gould M M, Talmud P, Humphries S E, Yudkin J S. The Insertion Allele of the ACE Gene I/D Polymorphism . A Candidate Gene for Insulin Resistance? **Circulation** 92:3390-3393, 1995.

39- Stephens J W, Dhamrait S S, Cooper J A, Acharya J, Miller G J, Hurel S J,

Humphries S E. The D allele of the ACE I/D common gene variant is associated with Type 2 diabetes mellitus in Caucasian subjects. **Molecular Genetics and Metabolism** 84 (1): 83-89, 2005.

40- Zingone A, Dominijanni A, Mele E, Marasco O, Melina F, Minchella P. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is associated with elevated fasting blood glucose levels **Human Genetics** 94 (2): 207-209, 1994.

41- Kennon B, Petrie J R, Small M, Connell J.M.C. Angiotensin-converting enzyme gene and diabetes mellitus **Diabetic Medicine** 16 (6): 448-458, 1999.

42- Kajantie E, Rautanen A, Kere J, Andersson S, Ylihärsilä H, Osmond C, Barker D J, Forsén T, Eriksson J, The Effects of the ACE Gene Insertion/Deletion Polymorphism on Glucose Tolerance and Insulin Secretion in Elderly People Are Modified by Birth Weight. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 89 (11): 5738-5741, 2004.

43- Marre M, Bernadet P, Gallois Y, Savagner F, Guyene T, Hallab M, Cambien F, Passa P, Gelas F A. Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. **Diabetes** 43 (3) 384-388, 1994.

44- Araz M, Yılmaz N, Güngör K, Okan V, Kepekçi Y, Aynacıoğlu A S. Angiotensin Converting Enzyme gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients **Diabetes Research and Clinical Practice** 54 (2): 95-104, 2001.

45- Scheen A J. Prevention of type 2 diabetes mellitus through inhibition of the renin angiotensin system **Drugs** 64 (22): 2537-65, 2004.

46- Tabatabaei S, Schut C, Vásquez A A, Avella B, Hofman A, Witteman M, van Duijn M. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and cardiovascular morbidity and mortality: the Rotterdam Study. **Journal of Medical Genetics** 42: 26-30, 2005.

47- Nakahara K, Matsushita S, Matsuoka H, et al. Insertion/Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene affects heart weight. **Circulation** 101: 148-151, 2000.

48- Schunkert H, Hense H W, Holmer S R, Stender M, Perz S, Keil U. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left

ventricular hypertrophy. **The New England Journal of Medicine** 331 (16): 1097-1098, 1994.

49- Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. **Circulation** 90: 2622-2628, 1994.

50- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou J P, Arveiler D, Luc G, Bard J M, Bara L, Ricard S. et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. **Nature** 359 (6396): 641-644, 1992.

51- Reynolds M V, Bristow M R, Bush E W, Abraham W T, Lowes B D, Zisman LS, Taft C S, Perryman M B. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. **Lancet** 342 (8879): 1073-1075, 1993.

52- Montgomery H E, Keeling P J, Goldman J H, Humphries S E, Talmud P J, McKenna W J. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and idiopathic dilated cardiomyopathy. **Journal of American Coll Cardiology** 25 (7): 1627-1631, 1995.

53- Larsen B A, Nordestgaard B G, Steffensen R, Sorensen T, Jensen G, Hansen A T. ACE gene polymorphism: Ischemic heart disease and longevity in 10150 individuals. **Circulation** 95: 2358-67, 1997.

54- Araz M, Aynacioglu S, Okan V, Akdemir I, Aktaran S. Angiotensin-converting enzyme gene and coronary artery disease in Turkish type II diabetic patients. **Acta Cardiology** 57 (4): 265-269, 2002.

55- Araz M, Yilmaz N, Güngör K, Okan V, Kepekci Y, Aynacioglu A Ş. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients. **Diabetes research and clinical practice** 54 (2): 95-104, 2001.

56- Araz M, Aynacioglu S, Aktaran S, Alasehirli B, Okan V. Association between polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene and hypertension in Turkish type II diabetic patients. **Acta Medica** 44 (1): 29-32, 2001.

57- Tezcan H, Tuğlular S, Çiftcioğlu C, Fak A S, İsbir T. et al. Türk hipertansif hastalarda anjiyotensin-konverting enzim gen polimorfizmi ve sol ventrikül hipertrofisi

ilişkisi. **Turkish Society of Cardiology** 30 (12): 742-8, 2002.

58- Akbulut T, Bilsel T, Uyarel H, Terzi S, Sayar N, Aydın A, Dayı Ş Ü, Çiloğlu F, Bağirtan B, Peker İ, Yeşilçimen K. The Role of Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphism in the Development of Premature Coronary Artery Disease **Turkish Society of Cardiology** 32 (1): 23-27, 2004.

59- Marian A J, Yu O T, Workman R, Greve G, Roberts R. Angiotensin converting enzyme polymorphism is associated with hypertrophic cardiomyopathy as well as sudden cardiac death. **Lancet** 342: 1073-1074, 1993.

60- Bostan C, Karcıer S, Vural B, Ünaltuna N, ve ark. Hipertrofik kardiyomiyopatili erişkin Türk hastalarda anjiyotensin I dönüştürücü enzim gen polimorfizmi. **XVII. Ulusal Kardiyoloji Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı** 001, SB 110. 2000.

61- Tokgözoğlu S L, Alikışıfoğlu M, Atalar E, Tunçbilek E, Ovünç K, Aksöyek S, Kabakçı G, Anar B, Ünsal I, Kes S. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk and extent of ischemic heart disease among Turkish patients. **Coroner Artery Disease** 8 (3): 137-41, 1997.

62- Isbir T, Yılmaz H, Ağaçhan B, Aydın M, Isbir C S. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and coronary artery disease. **IUBMB Life** 48: 205-207, 1999.

63- Akar N, Aras O, Omurlu K, Cin S. Deletion polymorphism at the angiotensin-converting enzyme gene in Turkish patients with coronary artery disease. **Scand J Clin Lab Invest** 58 (6): 491-495, 1998

64- Arima H, Kiyohara Y, Tanizaki Y, Nakabeppu Y, Kubo M, Kato I, Sueishi K, Tsuneyoshi M, Fujishima M, Iida M. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism modifies the smoking-cancer association: the Hisayama Study. **European Journal of Cancer Prevention** 15 (3): 196-201, 2006.

65- Matthias P.A, Lendeckel U, Westphal S, Dierkes J, Glas J, Folwaczny C, Roessner A, Stolte M, Malfertheiner P, Röcken C. The Angiotensin I-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion Polymorphism Is Linked to Early Gastric Cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention** 14: 2987-2989, 2005.

66- Koh W P, Yuan J M, Sun C L, Van den Berg D, Seow A, Lee H P, Yu M C.

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. **Cancer Research** 63 (3): 573-8, 2003.

67- Cohen A J, Gilman L B, Fain P, Franklin W A, Miller Y E. Association of the angiotensin-converting enzyme (ACE) I/D polymorphism with susceptibility to lung cancer **Lung Cancer** 18 (1): 155, 1997.

68- Vigano A A, Hamel N, Morais J, Foulkes W, Kilgour R, Bond R. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism (ACEGP) and cancer cachexia (CC): Is there a link? **Journal of Clinical Oncology** 25 (18): 9011, 2007.

69- Turgut S, Turgut G, Atalay E Ö, Atalay A. Angiotensin-Converting Enzyme I/D Polymorphism in Behçet's Disease. **Medical Principles and Practice** 14 (4): 213-216, 2005.

70- Gosker H R, Pennings H J, Schols A M, Hopkinson N S. ACE gene polymorphism in COPD. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine** 170: 502, 2004.

71- Bárdi E, Jenei C, Kiss C. Polymorphism of angiotensin converting enzyme is associated with severe circulatory compromise in febrile neutropenic children with cancer. **Pediatric Blood Cancer** 45 (2):217-221, 2006.

72- Okabe T, Yamagata K, Fujisawa M, Watanabe J, Takaku F, Lanzillo J J, Fanburg BL. Increased angiotensin-converting enzyme in peripheral blood monocytes from patients with sarcoidosis. **The Journal of Clinical Investigations** 75 (3): 911-4, 1985.

73- Hatemi A C, Çine N, Tabak L, Kıyan E, Erelel M, Çuhadaroğlu Ç, Kıyan A. Angiotensin Converting Enzyme 1 Gene Insertion/Deletion Polymorphism in Patients with Sarcoidosis **Turkish Respiratory Journal** 2 (2): 35-38, 2001.

74- Lovrecic L, Ristic S, Starcevic C, Izmarevic N, Jazbec S S, Sepcic J, Kapovic M, Peterlin B. Angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphism and risk of multiple sclerosis. **Acta Neurol Scand** 114 (6): 374-7, 2006.

75- Heled Y, Moran D S, Mendel L, Laor A, Pras E, Shapiro Y. Human ACE I/D polymorphism is associated with individual differences in exercise heat tolerance. **Journal of Applied Physiology** 97 (1): 72-76, 2004.

76- Guiducci S, Fatini C, Rogai V, Cinelli M, Sticchi E, Abbate R, Cerinic M M.

Angiotensin-Converting Enzyme in Systemic Sclerosis. **Annals of the New York Academy of Science** 1069 (1): 10, 2006.

77- Ariza M, del Matarin M, Junqué C, Mataró M, Clemente I, Moral P, Poca M A, Garnacho A, Sahuquillo J. Influence of Angiotensin-Converting Enzyme Polymorphism on Neuropsychological Subacute Performance in Moderate and Severe Traumatic Brain Injury. **The Journal of Neuropsychiatry & Clinical Neurosciences** 18 (1): 39-44, 2006.

78- Ozkur M, Erbagcı Z, Nacak M, Tuncel A, Alasehirli B, Aynacıoğlu A S. Association of insertion deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene with psoriasis. **British Journal of Dermatology** 151 (4): 792-795, 2004.

79- Methot J, Hamelin B A, Arsenault M, Bogaty P, Plante S, Poirier P. The ACE-DD genotype is associated with endothelial dysfunction in postmenopausal women. **Menopause** 13 (6): 959-966, 2006.

80- Cadenas I F, Molina C A, Sabin J A, Ribo M, Penalba A, Torres L O, Delgado P, Quintana M, Montaner A R, Montaner J ACE gene polymorphisms influence t-PA-induced brain vessel reopening following ischemic stroke **Neuroscience Letters** 398 (3): 167-171 2006

81- Paterna S, Di Pasquale P, D'Angelo A, Seidita G, Tuttolomondo A, Cardinale A, Maniscalchi T, Follone G, Giubilato A, Tarantello M, Licata G Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Polymorphism Determines an Increase in Frequency of Migraine Attacks in Patients Suffering from Migraine without Aura **European Neurology** 43 (3): 133-136, 2000.

82- Park J K, Kim W, Kim S W, Koh G Y, Park S K Gene-polymorphisms of angiotensin converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase in patients with erectile dysfunction **International Journal of Impotence Research** 11: 273-276 1999.

83- Prkacin I, Novak B, Sertić J, Mrzljak A Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in patients with systemic lupus. **Acta Med Croatica** 55 (2): 73-76, 2001.

84- Marshall R P, Webb S, Bellingan G J, Montgomery H E, Chaudhari B, McAnulty R J, Humphries S E, Hill M R Laurent G J Angiotensin Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism Is Associated with Susceptibility and Outcome in

Acute Respiratory Distress Syndrome **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine** 166: 646-650, 2002.

85- Eleni S, Dimitrios K, Vaya P, Areti M, Magdalini V, Magdalini G. Angiotensin-I converting enzyme gene and I/D polymorphism distribution in the Greek population and a comparison with other European populations **Journal of Genetics** Vol. 87 (1): 91-93, 2008.

86- Cicoira M, Zanolla L, Rossi A, Golia G, Franceschini L, Cabrini G, Bonizzato A, Graziani M, Anker S D, Coats J S, Zardini P Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic heart failure is associated with ACE DD genotype **Journal of American College of Cardiology** 37: 1808-1812

87- Bartoli F, Angotti C, Fatini C, Conforti M L, Guiducci S, Blagojevic J, Melchiorre D, Fiori G, Generini S, Damjanov N, Rednic S, Pignone A, Castellani S, Abbate R, Cerinic M M Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and macrovascular disease in systemic sclerosis **Rheumatology** 46 (5): 772-775, 2007

88- Dudley J, Johnston A, Gardner A, McGraw M The deletion polymorphism of the ACE gene is not an independent risk factor for renal scarring in children with vesico-ureteric reflux **Nephrology Dialysis Transplantation** 17: 652-654, 2002.

89- Öztürk M A, Çalgüneri M, Kiraz S, Ertenli İ, Onat A M, Üreten K, Özbalkan Z, Haznedaroğlu İ C Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Behçet's disease **Clinical Rheumatology** 23 (2): 142-146, 2004.

90- Serrano N C, Díaz L A, Páez M C, Mesa M C, Cifuentes R, Monterrosa A, González A, Smeeth L, Hingorani A D, Casas J P Angiotensin-Converting Enzyme I/D Polymorphism and Preeclampsia Risk: Evidence of Small-Study Bias **Plos Medicine** 3 (12): 520, 2006.

Ek-1

**C.Ü TIP FAKÜLTESİ TIBBİ GENETİK AD
ACE I/D GEN POLİMORFİZMİ ÇALIŞMASI ANKET FORMU**

Ad/Soyad :

Yaş :

Cinsiyet :

Memleket :

Meslek :

Adres :

Telefon :

Dosya no :

Alınan örnek tipi :

ANAMNEZ

Hipertansiyon öyküsü :

Hipertansiyon aile öyküsü :

Diabet öyküsü :

Diabet aile öyküsü :

Kalp hastalığı öyküsü :

Kalp hastalığı aile öyküsü :

Böbrek hastalığı öyküsü :

Böbrek hastalığı aile öyküsü :

Kanser öyküsü :

Kanser aile öyküsü :

Diğer hastalıklar :

Diğer hastalıklar aile öyküsü :

Doğumsal anomaliler :

Obezite :

Anne-baba akrabalığı :

Ad/Soyad

İmza

TA(Sistolik/Diastolik) :

FM bulguları :

Nörolojik

CVS

GÜS

Solunum Sistemi

Sindirim Sistemi

Deri

Göz

KBB

Eklem/Kas/İskelet

Hekim
İMZA