



## Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE) İnsersiyon/Delesyon (I/D) Gen Polimorfizmi

Malik Ejder Yıldırım\*, Nadir Koçak\*\*, Filiz Özen\*\*\*, Öztürk Özdemir\*\*\*\*

\*Sivas Devlet Hastanesi, Sivas

\*\*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya

\*\*\*Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

\*\*\*\*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Sivas

**Amaç:** Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE), başta renin-anjiotensin-aldosteron sistemi (RAAS) olmak üzere bir çok fizyolojik veya metabolik olayda doğrudan ya da dolaylı etkisi olan bir ekzopeptidazdır. Anjiotensin I'ı vazoaaktif ve aldosteron stimulan bir peptid olan anjiotensin 2'ye dönüştürür ve bradikinin'i kinin yıkım ürünlerine parçalar. Anjiotensin 2 ve bradikinin sistem üzerine multipl akut ve kronik etkileri olan güçlü vazoaaktif 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 hormonal düzenleyici sistem (RAAS) ve Kallikrein Kinin Sistem] üzerindeki yaşamsal rolü nedeniyle ACE yapı ve fonksiyonda önemli bir etkiye sahiptir. ACE'e ait insersiyon/delesyon (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.

**Materyal ve Metod:** Bu çalışmada, Sivas ve çevresinde ACE insersiyon/delesyon (I/D) gen polimorfizmi ve allel sıklığını belirlemeyi amaçladık. Normal popülasyondan seçilen 222 kişi reverse hibridizasyon yöntemi kullanılarak ACE gen polimorfizmi açısından değerlendirildi.

**Sonuç:** Test edilen olgularda DD genotipi %32.8, ID genotipi %53.2 ve II genotipi %14 olarak bulundu (D allel frekansı 0.59, I allel frekansı 0.41). Sonuçlarımız, ACE gen polimorfizmi ve allel sıklığı açısından araştırma bölgesinin Türkiye ve diğer Avrupa ülkeleri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** ACE, İnsersiyon, Delesyon, Polimorfizm.

### Anjiotensin Converting Enzyme (ACE) Insertion/Deletion (I/D) Gene Polymorphism

**Aim:** 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 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 (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 insertion deletion (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.

**Materials and Methods:** In this study, we aimed to detect ACE I/D gene polymorphism and allele frequencies in Sivas and its peripheric regions. 222 case from normal population have been evaluated for ACE gene polymorphism by the reverse hybridization technique.

**Conclusions:** The DD genotype was found in 32.8%, ID genotype in 53.2%, and II genotype in 14% of the subjects tested. The frequency of D allele was 0.59 and I allele was 0.41. Our conclusions indicate that, the distribution of ACE I/D polymorphism and allele frequencies in Sivas were not significantly different from Turkey and the other European countries.

**Key Words:** ACE, Insertion, Deletion, Polymorphism.

Anjiotensin/Dönüştüren Enzim (ACE) (RAAS)'inin 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.<sup>1</sup> AGTII ve bradikininisistem üzerine multipl akut ve kronik etkileri olan güçlü vazoaaktif moleküllerdir. İlki potent bir vazokonstrüktör, ikincisi ise güçlü bir vazodilatatördür.

Basvuru Tarihi: 24.02.2010, Kabul Tarihi: 31.03.2010

ACE'nin bu iki fonksiyonu onu yüksek kan basıncı, kalp yetmezliği, diabetik nefropati, tip 2 DM'nin tedavisinde ideal bir hedef durumuna getirmektedir.<sup>2</sup> Geniş enzimatik özgünlüğü ve yaygın dağılımı nedeniyle ACE'nin başka fizyolojik rolleri de olması gerektiği kanısı hakimdir.<sup>3</sup> 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.<sup>4</sup>

Bu bağlamda biz, Sivas bölgesinde bu genin söz konusu insersiyon/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.

## Materyal ve Yöntem

Bu çalışmaya Sivas ili sınırlarında yaşayan 112 erkek, 110 kadın olmak üzere toplam 222 kişi dahil edildi. Kişilerin Sivas doğumlu ve Sivasta ikamet eden bireyler olmalarına dikkat edildi. Bu amaçla 720 kişi (366 erkek ve 354 bayan) rastgele belirlendi ve bunların arasından 222 kişi rastgele sayılar yöntemi kullanılarak seçildi. Çalışma C.Ü Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında yapıldı. 2 cc periferik venöz kan etiketli EDTA'lı tüplere alınarak kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Bütün hastalardan genomik DNA izolasyonu periferik kan dokusundan yapıldı. Bunun için Invitek Invisorb Spin Blood DNA İzolasyon Kiti kullanıldı. Yaklaşık 200 µl periferik kan dokusunun kullanıldığı teknik sonrasında 30–50 ng/µl ultrapür genomik DNA izole edildi. ACE 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. Hibridizasyon işleminden önce elde edilen PCR ürünleri (4 µl) %1'lik elektroforezde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. Başarılı amplifikasyon elde edilen PCR ürünlerinden 10 µl ürün revers hibridizasyon analiz için kullanıldı. 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. Hibridizasyon sonrası insersiyon tip bantların mevcut olduğu ve delesif gen bölgesine ait bantın bulunmadığı strip profilleri bireyin II homozigot gen polimorfizmine sahip olduğunu göstermekteydi. Delesif gen bölgesine ait bantda sinyal alındığında ve insersiyon bölgesinde sinyal saptanmadığında bireyi DD homozigot genotip olarak değerlendirdik. Her iki bölgede de sinyal alınması ve çift bant oluşumunu I/D heterozigozitesi olarak değerlendirdik.

Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde windows ortamında SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 istatistiksel paket programı kullanılmıştır. 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 değerlendirilmiştir.

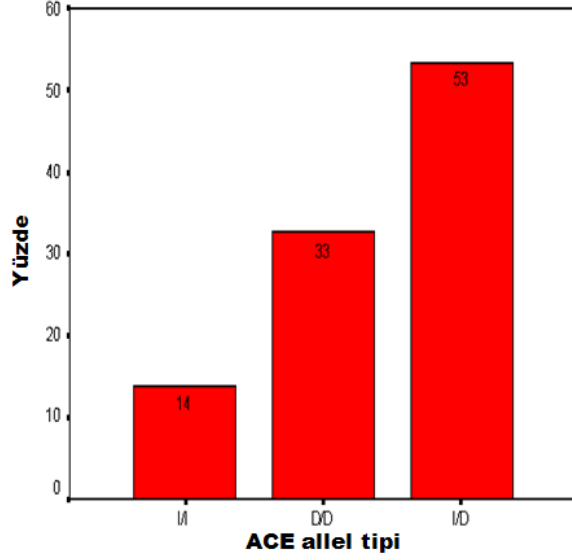
## Bulgular

ACE insersiyon/delesyon polimorfizminin tüm bireyler arasındaki dağılımına bakıldığında II genotipinde 31 kişi (%14), ID genotipinde 118 kişi (%53.2), DD genotipinde 73 kişi (%32.8) saptanmıştır. D allel frekansı: %59.5, I allel frekansı: %40.5 olarak hesaplanmıştır (Tablo 1, Şekil 1).

**Tablo 1.** ACE I/D allel ve genotiplerinin bireyler arasında dağılımı.

	Sayı N	Yüzde %
I/I	31	14
D/D	73	32.8
I/D	118	53.2
I alleli	180	40.5
D alleli	264	59.5

## Anjiotensin Dönüştüren Enzim (ACE) İnsersiyon/Delesyon (I/D) Gen Polimorfizmi



Şekil 1. 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 2).

Tablo 2. ACE I/D allel ve genotiplerinin cinsiyetler arasında dağılımı.

	Erkek n (%)	Kadın n (%)
I/I	17 (15.2)	14(12.7)
D/D	46 (41.1)	27 (24.5)
I/D	49(43.7)	69 (62.7)
I alleli	83(37.1)	97(44.1)
D alleli	141(62.9)	123(55.9)

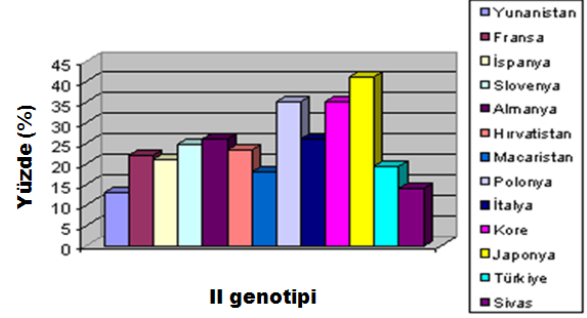
Çalışmaya katılan bireyler arasında ACE genotipleri ile hipertansif olguların karşılaştırılması yapılmış ve toplam 39 hipertansif bireyin genotipleri değerlendirildiğinde II (5 olgu: %2.2), ID (13 olgu: %5.8) ve DD olguları (21 olgu: %9.4) arasında hipertansiyon oranı açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. ( $X^2$ : 3.793, P: 0.150).

Aynı yöntemle ACE insersiyon/delesyon polimorfizmleri ile kalp hastalığı, renovasküler hastalıklar, diyabet, kanser öyküsünün karşılaştırmalı değerlendirilmesi sonucunda polimorfik gruplarda hastalık oranları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

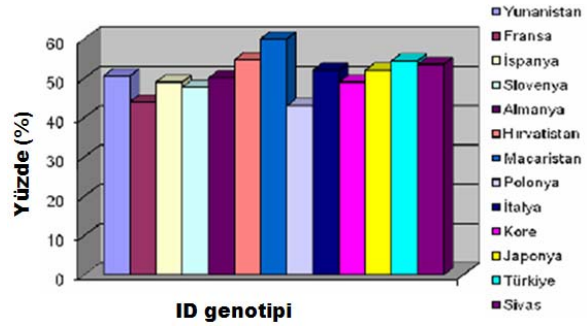
### Tartışma

Bölgemiz dahilinde yaptığımız çalışma sonucunda 222 kişilik grupta ACE I/D polimorfizmi allel sıklığı sırasıyla ID genotipi için %53.2 (118 kişi), DD genotipi

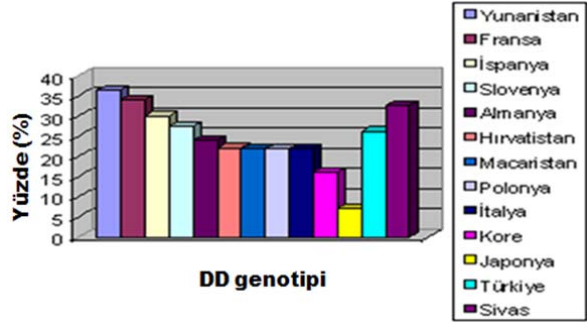
için %32.8 (73 kişi) ve II genotipi için %14 (31 kişi) olarak tespit edilmiştir. Sivas ve çevresi için D allel frekansı 0.59 ve I allel frekansı 0.41 olarak saptanmıştır. Bölgemize dönük elde ettiğimiz bu değerler Türkiye oranlarına yakındır. Türkiye verileri, başta Yunanistan, Fransa ve İspanya olmak 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.<sup>5</sup> (Şekil 2,3,4).



Şekil 2. ACE II genotipinin ülkeler arası dağılımı



Şekil 3. ACE ID genotipinin ülkeler arası dağılımı



Şekil 4. ACE DD genotipinin ülkeler arası dağılımı

ACE serum düzeyleri hipertansif olgularda normotansiflere oranla daha yüksek seyretmekte ve ayrıca hipertansif olgularda ACE ile kan basıncı arasında ılımlı bir korelasyon göze çarpmaktadır.<sup>6</sup> 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.

birlikte<sup>7</sup> kayda değer sayıda çalışma ACE genotipi ile hipertansiyon ilişkisinin kadınlarda değil ama erkeklerde göz önüne alınması gereken bir husus olduğunu öne sürmektedir.<sup>8,9</sup> Tip 2 diabetes 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 diabetes gelişiminin %14-34 oranında azaldığını ortaya çıkarmıştır.<sup>10</sup>

ACE I/D polimorfizmini sol ventrikül hipertrofisi, kalp kitlesi ve fonksiyonları ile ilişkilendiren değişik çalışmalar vardır.<sup>11-13</sup>

ACE I/D polimorfizminin renal fonksiyonlara ve renal hastalıklara etkisi konusunda değişik görüşler mevcuttur. Samuelsson ve arkadaşları nondiabetik, ilerleyici kronik böbrek hastalıklarında DD polimorfizminde I/D ve II grubuna oranla böbrek fonksiyonlarındaki azalmanın daha belirgin olduğunu ve daha hızlı seyrettiğini ayrıca DD polimorfizminin erkek hastalarda böbrek fonksiyonlarında daha hızlı azalmanın önemli bir prediktörü olduğunu ortaya koydular.<sup>14</sup>

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.<sup>15</sup>

ACE genotipi ile kanser arasında bir bağlantının olup olmadığına dair çok sayıda çalışma yapılmıştır. P. Matthias ve arkadaşlarının erken gastrik kanser olguları<sup>16</sup> ve W. Koh ve arkadaşlarının göğüs kanseri olguları<sup>17</sup> üzerine yaptıkları çalışmalar bu maligniteye maruz bireylerde DD genotipinin daha yüksek oranda var olduğunu göstermekte ve II alelinin düşük risk profili oluşturduğunu düşündürmektedir

(ACE) insersiyon/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. Yaptığımız çalışma, Sivas popülasyonunda ACE gen polimorfizmlerinin dağılımı hakkında Avrupa ve Türkiye ile uyumlu olduğuna dair sonuçlar vermiştir. Bununla birlikte daha ayrıntılı sonuçların elde edilebilmesi ve bu polimorfizmin hastalıklarla olası ilişkilerini açığa çıkarabilmek için daha geniş çalışmaların yapılması uygun olacaktır.

## Kaynaklar

1. Brewster UC, Perazella MA. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease Am J Med 2004;116(4):263-72.
2. Bernstein KE. Views of the renin-angiotensin system. Hypertension 2006;47(3):509-14
3. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. Circulation 1998;97(14):1411-20.
4. Crisan D, Carr J. Angiotensin I-converting enzyme genotype and disease associations. J Mol Diag 2000;2(3):105-15.
5. 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. J Gen 2008; 87(1):91-3.
6. Bhavani BA, Padma T, Sastry S, Reddy NK. Gender specific association of insertion/ deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension. Int J Hum Gen 2004;4(3):207-13.
7. Bedir A, Arik N, Adam B, Kılınç K, Gumus T, Guner E. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and activity in Turkish patients with essential hypertension. Ame J Hyperten 1999;12(10):1038-43.
8. O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, et al. 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 1998;97:1766-72.
9. Higaki J, Baba S, Katsuya T, et al. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increases risk of essential hypertension in Japanese men. Circulation 2000;101:2060-5.
10. Scheen AJ. Prevention of type 2 diabetes mellitus through inhibition of the renin angiotensin system. Drugs 2004; 64 (22): 2537-65.
11. Nakahara K, Matsushita S, Matsuoka H, et al. Insertion/Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene affects heart weight. Circulation 2000; 101: 148-51.
12. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. New Eng J Med 1994;331(16):1097-8.
13. 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 1994; 90: 2622-8.
14. Samuelsson O, Attman P, Larsson R, et al. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in non-diabetic renal disease. Nephrol Dial Transplant 2000;15(4):481-6.
15. Stephens JW, Dhamrait SS, Cooper JA, et al. The D allele of the ACE I/D common gene variant is associated with Type 2 diabetes mellitus in Caucasian subjects. Mol Gen Metabol 2005;84(1):83-9.
16. Matthias PA, Lendeckel U, Westphal S, et al. The Angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism is linked to early gastric cancer. Cancer Epidemiol Biomark Prevent 2005;14:2987-9.
17. Koh WP, Yuan JM, Sun CL, et al. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. Cancer Res 2003;63(3):573-8.

**İletişim Adresi:** Uzm.Dr. Nadir KOÇAK  
Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
KONYA  
Tel: 0332 323 67 09 /2054  
Cep:05065449128  
E-mail: [nadirkocak@yahoo.com](mailto:nadirkocak@yahoo.com)