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

Tez Yöneticisi
Yrd.Doç.Dr.Tammam SİPAHİ

# HİPERTANSİYONLU HASTALARDA ACE GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Metin BUDAK**

**EDİRNE-2006**

**T.C.**
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**

**Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü**

# O N A Y

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

İmza
Unvanı Adı Soyadı
JÜRİ BAŞKANI

Doç. Dr. Bülent S. CIĞALI
Anatomi Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Biyofizik Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR
Biyofizik Anabilim Dalı

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

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

## SIMGE VE KISALTMALAR

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

# İÇİNDEKİLER


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

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

# GİRİŞ VE AMAÇ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

# GENEL BİLGİLER

## HİPERTANSİYON (YÜKSEK TANSİYON)

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

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

**Hipertansiyon Belirtileri:**

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

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

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

**Sebebine Göre Hipertansiyon İki Guruba Ayrılır:**

**a-** Esansiyel hipertansiyon (sebebi belli olmayan)

**b-** Sekonder hipertansiyon (başka bir hastalıktan dolay ortaya çıkan hipertansiyon, örneğin damar sertliği veya böbrek yetersizliği gibi) (4).

## HİPERTANSİYON OLUŞMASINDAKİ FAKTÖRLER

### Değiştirilemez Faktörler

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

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

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

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

### Değiştirilebilir Faktörler

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

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

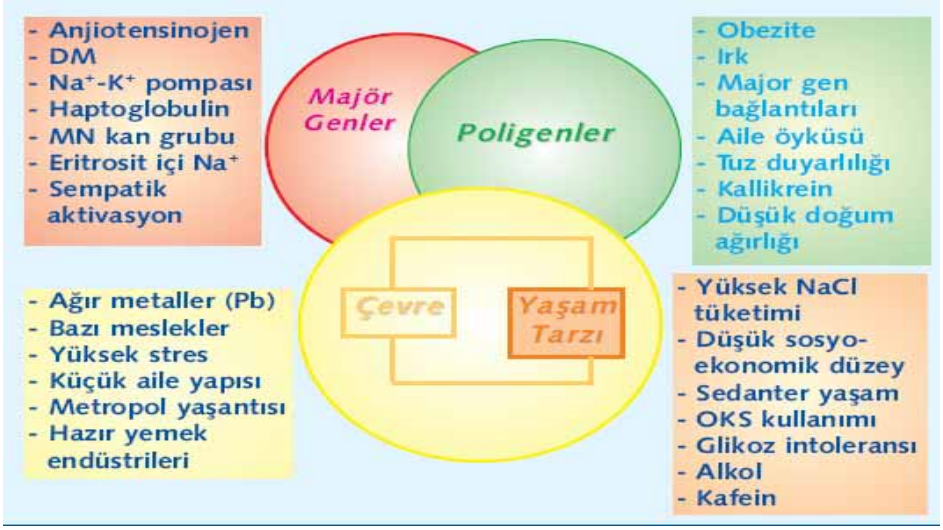
**c) Tuz:** Yüksek kan basıncı, tuzlu yiyeceklerle daha da yükselir (8).

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

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

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

Hipertansiyon üstüne etki eden faktörler Şekil 1 de gösterilmiştir.




**Şekil 1: Hipertansiyon etiyopatogenezini oluşturan öğeler (8).**

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

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

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

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

**Normal ve Yüksek Kan Basınçları:**

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

**Tablo 1: Kan basıncı sınıflandırılması**

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

**Hipertansiyonun Hedef Organları:**

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

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

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

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

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

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

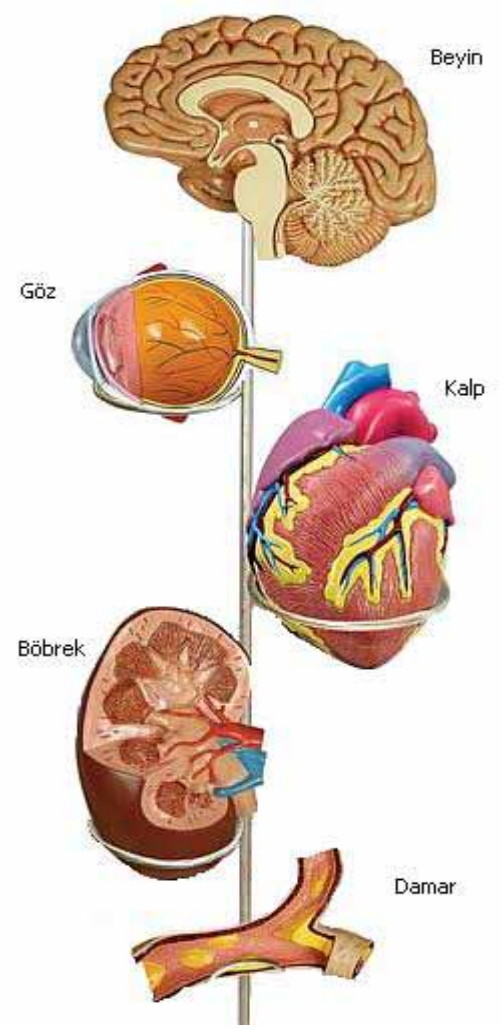
**g) Böbrek:** Tedavi görmeyen esansiyel hipertansiyonlu hastalarda, böbrek damarlarında tahribat olmakta ve böbreklerde çalışma bozukluğu zaman içinde yerleşmekte ve ilerlemektedir. Böylece hipertansiyonlu hastaların bir kısmında "üremi" hastalığı gelişebilir (16).

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

Hipertansiyonun hedef organları Şekil 2'de gösterilmiştir.

**Poligenik HT**

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




**Şekil 2: Hedef organlar**

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

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

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

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

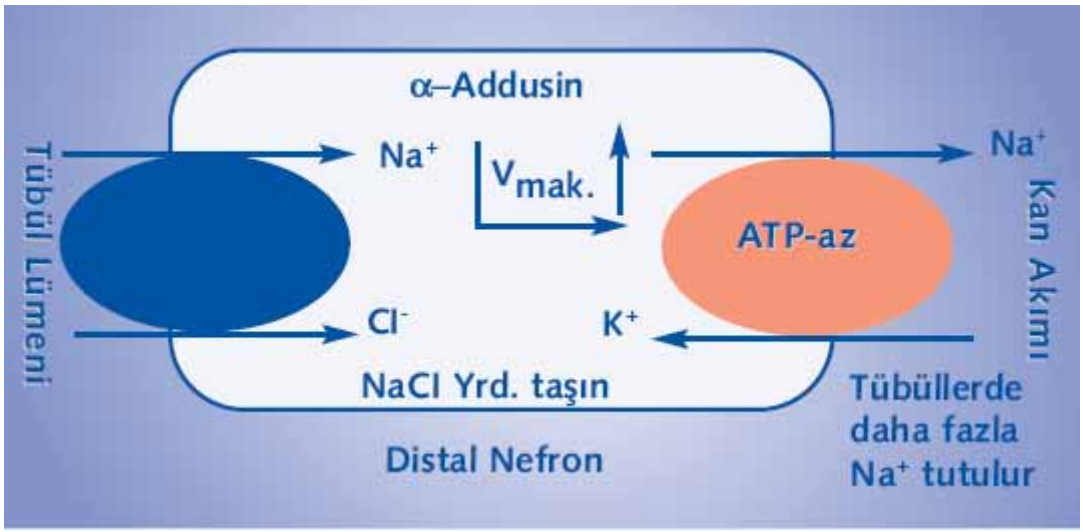
**Tablo 2:** **Esansiyel hipertansiyon etiyolojisinde suçlanan genetik bozukluklar (8).**

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

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

Aldosteron salınımı tamamen ACTH kontrolünde kalmaktadır. Doğumdan itibaren şiddetli HT bulunan olgularda, 30'lu yaşlarda serebrovasküler hemorajiler izlenebilmektedir. Hastalarda renin düzeyleri baskılanmıştır, ancak hipokalemi görülme sıklığı düşüktür. Tedavide düşük doz steroid kullanılmaktadır.

**Addusin Geni:** Halen HT hastalarında izlenen iyon taşınımındaki faklılıkların açıklanabilmesi için araştırılmaktadır (15). Hücre iskeleti ve integral membran proteinleri, epiteliyal ve nöron hücrelerinde polaritenin sağlanması ve iyon taşınmasında önemli bir rol oynamaktadır. Aktin kökenli hücre-iskeleti özellikle nefron tübüler hücrelerinde üç değişik iyon taşıyıcısıyla ilişkilidir. Bunlar sırasıyla epiteliyal $Na^+$ kanalları, $Na^+$ -$K^+$ -$Cl^-$ yardımcı taşıyıcısı ve $Na^+$-$K^+$-ATPaz proteinleridir (25). Bu hücre-iskeleti proteinlerini oluşturan aktin/spektrin ağı bir heterodimer protein olan Addusin tarafından kontrol edilmektedir. Addusin genindeki defektler, $Na^+$-$K^+$ pompa aktivasyonunda ciddi bir artışa neden olarak tübüllerde daha fazla $Na^+$ tutulmasına yol açmaktadır (Şekil 3). Addusin genindeki defektlerin İtalyan ve Fransız tuza duyarlı HT hastalarında varlığı gösterilmiştir (1, 26).




**Şekil 3: Alfa adusinin distal nefrondaki etkisi (8).**

**Belirgin Mineralokortikoid Fazlalığı Sendromu (AME):** Otozomal resesif geçiş gösteren bu sendromda sorun 11β- hidroksi steroid dehidrogenaz enziminin daha çok böbreğe özel izoformundadır. Normalde mineralokortikoid reseptör düzeyinde aktif olan kortizol, bu enzim sayesinde, inaktif metabolit olan kortizona dönüşmektedir (18). 11βHSD2 genindeki defekt sonucunda, inaktif metabolite dönüşemeyen kortizol, renin angiotensin sistemini baskılamakla birlikte, mineralokortikoid reseptörleri üzerinden $Na^+$ tutulmasına yol açıp, kan

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

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

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

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

**Angiotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi**

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

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

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

**ACE I/D Polimorfizmi**

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

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

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

# GEREÇ VE YÖNTEM

## GEREÇLER

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

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

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

## KİMYASAL MALZEMELER

Agaroz (Sigma)
Borik Asit (Sigma)
dNTP (deoksi Nükleotid Tri Fosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP ) (MBI)
Etanol %100 (Promega)

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Sigma)

Magnezyumklorur (Sigma)

Proteinaz K (BioBasic)

Sodyum Dodesil Sülfat SDS (Sigma)

Taq Polimeraz Seti (BioBasic)

Trisma Base (Sigma)

## ÇALIŞMADA KULLANILAN CİHAZLAR

Agaroz Elektroforez Tankı (Bio-Metra)

Derin Dondurucu (Vestel)

Distile Su Cihazı (Nüve)

Dijital Fotoğraf makinesı (Kodak EasyShare 2330)

Güç Kaynağı (Bio-Metra)

Manyetik Karıştırıcı (Nüve)

Otoklav (Nüve)

Otomatik Mikro Pipetler (Socorex)

pH metre (Schott)

Santrifüj (Hettich)

Spektrofotometre (Biotech)

Terazi (Scaltec)

ThermalCycler (Techne)

Vorteks (Nüve)

## ÇÖZELTİLER

**Agaroz Jel Elektroforezi çözeltisi**

**10X Yükleme Çözeltisi**

4 gr Sukroz

25 mg BPB (Bromofenolmavisi)

$dH_2O$ ile 10 ml'ye tamamlanır.

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

54 gr Tris bazı

3.32 gr EDTA

27.5 gr Borik Asit

**DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler**

**Hücre Parçalama Çözeltisi**

155 mM $NH_4Cl$

10 mM $KHCO_3$

0.1 mM EDTA

**Çekirdek Parçalama Çözeltisi (pH; 8.2)**

mM Tris-HCl

400 mM NaCl

2 mM EDTA

SDS (Sodyum Dodesil Sülfat): %10

Proteinaz K: 20 mg /ml

## YÖNTEMLER

### DNA İZOLASYONU

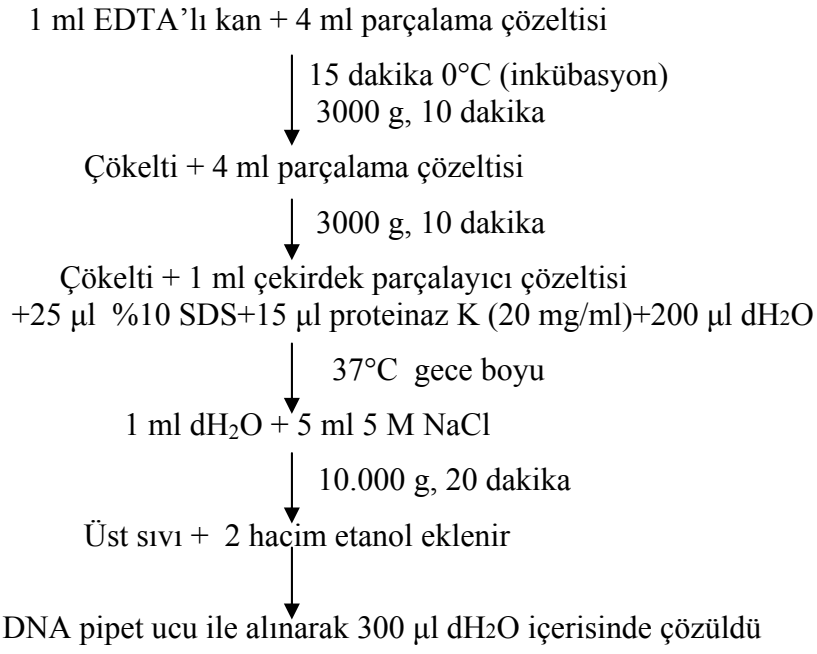
Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden Şekil 4'te gösterilen yöntem ile DNA izole edildi. İzole edilen DNA distile su içinde çözüldü ve konsantrasyonları 260 nanometre (260 nm) dalga boyunda okunarak; optik yoğunlukları ile DNA miktarları aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi.

DNA (µg/ml) = 260 nm'deki OD x sulandırma oranı x katsayı (DNA için 50).

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

### Polimeraz Zincir Reaksiyonu

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




**Şekil 4: Kan örneklerinden DNA izole yöntemi.**

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

| **ACE I / D** | **Kullanılan Primer Dizileri** | **Ürün Uzunluğu** |
|---|---|---|
| **I / D** | **ACE- ID1:**<br>**CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT**<br>**ACE-ID2:**<br>**GATGTGGCCATCACATTGGTCAGAT** | **D alleli için 190 bç**<br><br>**I alleli için 490 bç** |
| **D / D** | **Doğrulama primerleri:**<br>**ACE- DD1:**<br>**TTTGAGACGGAGTCTCGCTC**<br>**ACE- DD2:**<br>**GTTTGAATCCATGCTTTGCTC** | **D alleli için 190 bç**<br><br>**I alleli için 270 bç** |

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

**PCR Koşulları**

Reaksiyon ortamı : 1 x PCR tamponu
1.5 mM $MgCl_2$
0.2 mM dNTP karışım
1.25 U Taq polimeraz
0.16 µM her bir primer
.....µl $dH_2O$

Toplam hacim : 25 µl

**Döngü:**

**Başlangıç** 94˚C , 5 dakika

94˚C , 1 dakika
58˚C , 1 dakika } 30 Döngü
72˚C , 2 dakika

**Sonlanma** 72˚C , 5 dakika

# BULGULAR

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

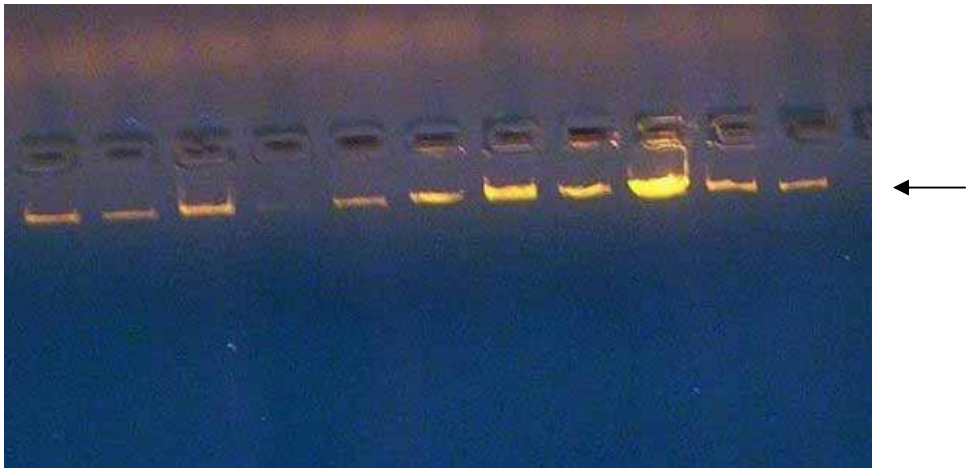
**Tablo 4 :Kontrol ve hasta guruplarının klinik bulguları**

| | **Kontrol (n=38)** | **Hasta (n=80)** |
|---|---|---|
| **Cinsiyet ( K : E)** | 24 : 14 | 48 : 31 |
| **Yaş** | 38.40 - +6.53 | 43.52 - + 3.37 |
| **VKİ (Kg / $m^2$ )** | 117 - + 9.98 | 155.59 - + 11.31 |
| **SKB (mmHg)** | 117.11 - + 9.98 | 155.59 - + 11.31 |
| **DKB (mmHg)** | 74.63 - + 7.0 | 98.25 - + 6.47 |

**Tablo 5 :ACE genotiplerinin Kontrol ve Hasta guruplarındaki dağılışları**

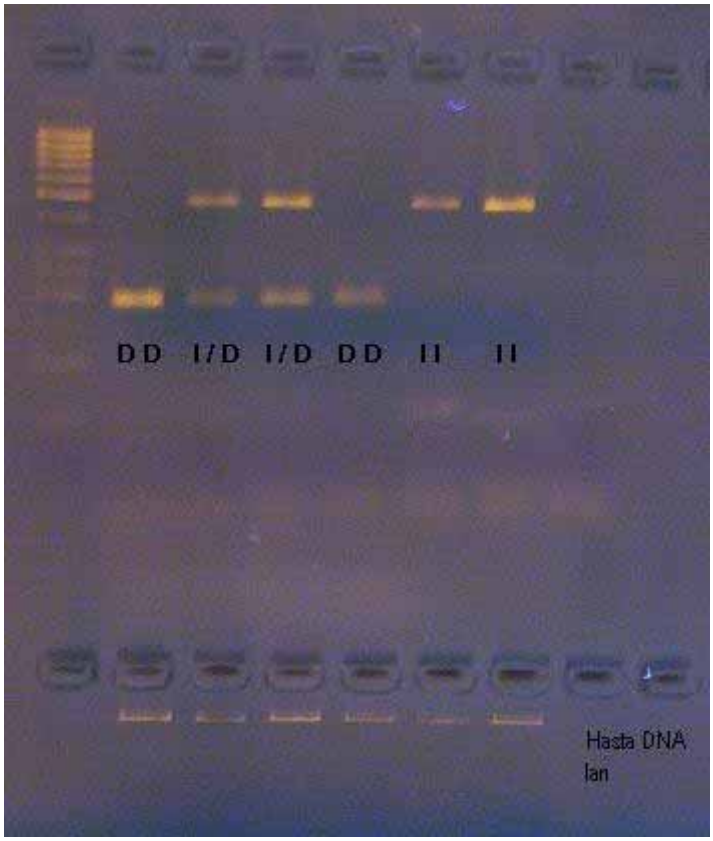
| **Değişkenler** | **Normal Kontrol** | **Primer Hipertansiyon** |
|---|---|---|
| **Genotip** | | |
| **I I** | 12 (31.6) | 19 (24.1) |
| **I D** | 15 (39.5) | 34 (43.0) |
| **DD** | 11 (28.9) | 26 (32.9) |
| **Alleller** | | |
| **I** | 39(51.3) | 72 (45, 6) |
| **D** | 37 (48.7) | 86 (54.4) |

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

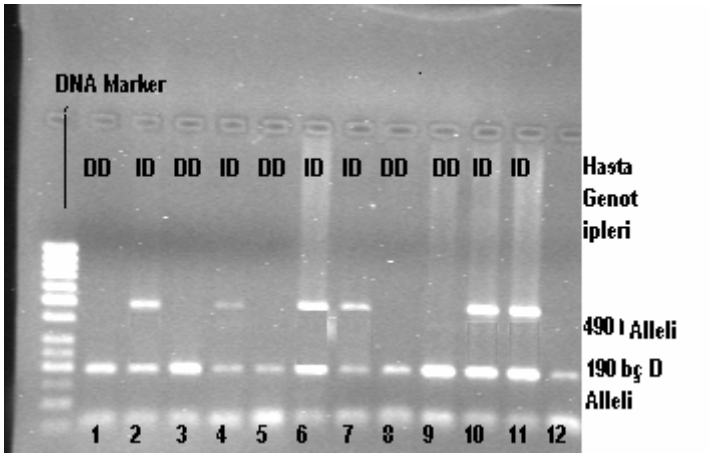


**Resim 1: Hasta DNA örneklerinin %2 lik Agaroz jelde yürütülmesi (u.v ışık altında)**

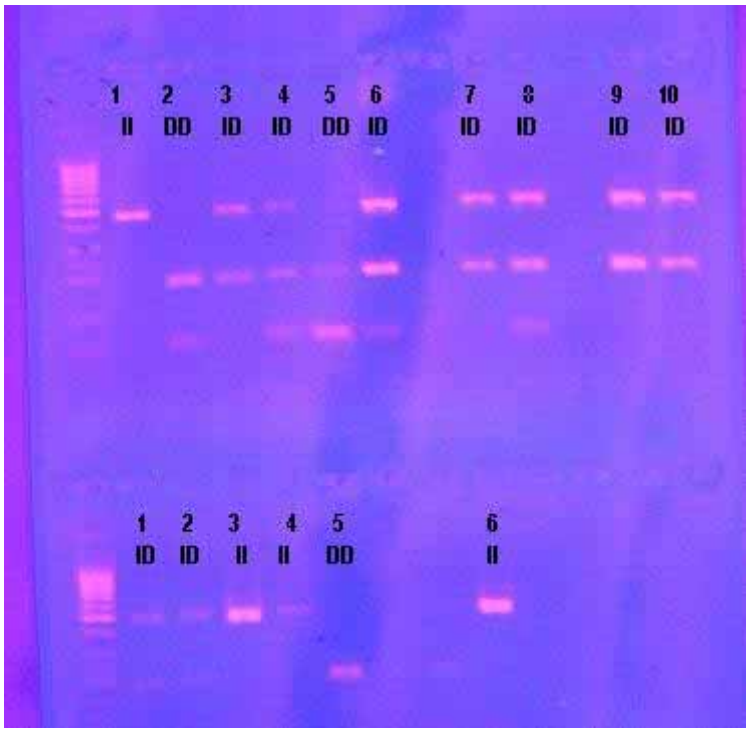
PCR ürünleri %2 lik agaroz jelde yürütülerek izlendi (Resim 2-4)




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




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




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

# TARTIŞMA

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

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

**Tablo 6: Bir örneklem Kolmogorov - Simirnov istatistik testi**

| | |
|---|---|
| Örnek sayısı | 117 |
| Normal parametreler [a,b] Ortalama | 1.9487 |
| Standart sapma | 0.7639 |
| Kolmogorov – Smirnof Z | 2.277 |
| P : | 0.000 |

**a:Test dağılımı Normal**
**b:Hesaplanmış veri**

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

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

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

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

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

# SONUÇLAR

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

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

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

# ÖZET

## HİPERTANSİYONLU HASTALARDA ACE GEN POLİMORFİZMİ

## METİN BUDAK

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



**Anahtar Kelimeler:** Angiotensin Converting Enzim, Hipertansiyon, Polimorfizm

## SUMMARY

## ACE GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH HYPERTANSION

**METİN BUDAK**

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



**Key words:** Angiotensin Converting Enzyme, Hypertension, Polymorphism

# KAYNAKLAR


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

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

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

37. Johnston CI. Tissue angiotensin converting enzyme in cardiac and vascular hypertrophy, repair, and remodeling. Hypertension 1994; 23: 258.68.
38. Nomura H, Koni I, Michishita Y, Morise T, Takeda R. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hemodialysis patients. Lancet 1994; 343: 482.
39. Cambien F, Costerousse O, Tiret L, Poirier O, Lecerf L, Gonzales MF, et al. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin converting enzyme in relation to myocardial infarction. Circulation 1994; 90: 669-76.
40. Payne MN, Mc Donald F, Murray RG, Barlett WA. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening (letter). Circulation 1994; 90: 2566.
41. Fried W, Krempler F, Sandhofer F, Paulweber B. Insertion-deletion polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene and blood pressure during ergometry in normal males. Clin Genet 1996; 50: 541.4.
42. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi AM, Hemingway H, et al. Association of Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. Circulation 1997; 96: 741-736.
43. Abdi R, Tran TB, Zee R, Brenner BM, Milford EL. Angiotensin gene polymorphism as a determinant of posttransplantation renal dysfunction and hypertension. Transplantation 2001;72(4):726-9.
44. Barocci S, Ginevri F, Valente U, Torre F, Gusmano R, Nocera A.Correlation between angiotensin-converting enzyme gene insertion/ deletion polymorphism and kidney graft long-term outcome in pediatric recipients. Transplantation 1999;67(4):534-8.
45. Dosh MS: The treatment of adults with essential hypertension. The J Family practice (serial on line) 2002 http://www. jfp.online.com
46. Oussame MN. Khatib Mohamed Sayed. Clinical Guidelines for the management of hypertension (Serial online) 2005. http://www.emro.who.int/dsaf/dsa234.pdf
47. Carretero OA, Oparil S: Essential Hypertension Part I: Definition an Etiology. Circulation 2000;101: 329-335
48. anunta P, Vecchio DL, Amar K, Bianchi G: Genetic determinants and renal mechanisms in essential hypertension. J Human Hypertension. 1996; 10(10):649-656

# RESİMLEMELER LİSTESİ

**Şekiller;** **Sayfa**

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

**Tablolar;**

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

**Resimler;**

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

# ÖZGEÇMIŞ.

**Metin Budak**

**Doğum tarihi:** 15. 06. 1976

**EĞİTİM:**

**1990 – 1993** İstanbul, Şişli Lisesi

**1993 – 1997** İstanbul, İstanbul Universitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

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

**2001 – 2006** Edirne, Trakya Universitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Yüksek lisansı

**YAYINLAR ;**

***Uluslararası Hakemli Dergi Makaleleri:***

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

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

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

***Uluslararası Hakemli Kongre ve Sempozyum Bildirileri:***

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

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