

Venöz tromboembolili hastalarda anjiyotensin dönüştürücü enzim I/D ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/5G gen polimorfizmlerinin araştırılması

Halide KAYA¹, Mutlu KARKUCAK², Hatice SALİFOĞLU², Deniz TORUN², Salih KOZAN², Yusuf TUNCA²

¹ Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara,

² Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Venöz tromboembolili hastalarda anjiyotensin dönüştürücü enzim I/D ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/5G gen polimorfizmlerinin araştırılması

Giriş: Derin ven trombozu ve pulmoner emboli, venöz tromboembolizm olarak da bilinen oldukça yaygın görülen multifaktöriyel hastalıklardır. Genetik faktörlerin popülasyonlar arası farklılık göstermesi nedeniyle venöz tromboemboli ile ilişkili birçok polimorfizm çalışması yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda, hastalık gelişimi ile polimorfizmler arasındaki ilişki net olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda venöz tromboemboli ile ilişkili genetik faktörler arasında yer alan anjiyotensin dönüştürücü enzim insersiyon/delesyon (ACE I/D) ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/5G (PAI-1 4G/5G) polimorfizmlerinin hastalık gelişimindeki rolünü araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmamıza, 80 venöz tromboemboli hastası ve 79 kontrol birey dahil edildi. ACE I/D polimorfizminin araştırılmasında klasik polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılırken, PAI-1 4G/5G polimorfizminin belirlenmesinde allel spesifik amplifikasyon yöntemine dayanan polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Çalışmamızda, hasta grubu ile kontrol grubu arasında ACE I/D ve PAI-1 4G/5G polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Sonuç: Elde ettiğimiz bulgularda, bu gen polimorfizmleri ile venöz tromboemboli oluşumuna yatkınlık arasında ilişki bulunmamıştır. Daha fazla venöz tromboemboli hastasının değerlendirildiği ve ilişkisi olabilecek diğer gen polimorfizmlerinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Venöz tromboemboli, gen polimorfizmi.

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Halide KAYA, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 06018

Etilik, ANKARA - TÜRKİYE

e-mail: halidekaya@gmail.com

SUMMARY**The investigation of angiotensin converting enzyme I/D and plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphisms in venous thromboembolism patients**Halide KAYA¹, Mutlu KARKUCAK², Hatice SALİFOĞLU², Deniz TORUN², Salih KOZAN², Yusuf TUNCA²¹ Department of Medical Biology, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey,² Division of Medical Genetic, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey.

Introduction: Deep venous thrombosis and pulmonary embolism, known as venous thromboembolism and seen as a fairly common multifactorial diseases. Differ between populations due to genetic factors, several polymorphisms associated with venous thromboembolism was conducted. As a result of these studies the relationship between disease development and polymorphism is not clear yet. In this study we aimed to investigate the role of angiotensin converting enzyme insertion/deletion (ACE I/D) and plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G (PAI-1 4G/5G) polymorphism in the development of disease.

Materials and Methods: In our study, DNA isolated from 80 venous thromboembolism patients and 79 control groups was used. While the classical polymerase chain reaction method used to investigate the ACE I/D polymorphism, the polymerase chain reaction based on allele-specific amplification was used for the detection of PAI-1 4G/5G polymorphism.

Results: As a result, there were no significant statistical differences for ACE I/D and PAI-1 4G/5G polymorphism among patient and control groups ($p > 0.05$).

Conclusion: These findings revealed that there is no relationship between these polymorphisms and the development of venous thromboembolism, but large-scale studies are need to be done.

Key Words: Venous thromboembolism, gene polymorphism.

Tuberk Toraks 2013; 61(2): 88-95 • doi: 10.5578/tt.5185

GİRİŞ

Venöz tromboembolizm (VTE), kalıtsal ve edinsel predispozan faktörlerin yanı sıra ileri yaşa, uzun süreli immobilizasyona, cerrahi girişimlere, malignitelere, antifosfolipid sendromuna, oral kontraseptif kullanımına ve hormon replasman tedavisine bağlı olarak oldukça yaygın görülen multifaktöriyel bir hastalık olup, venlerde oluşan trombüslerle, bunlardan kopan parçaların, pulmoner arter ve dallarında yarattığı tıkanıklık ve kan akımındaki kesintileri ifade etmektedir (1-3). Gelişmiş ülkelerde ortalama görülme oranı 1/1000 olarak bildirilmekle birlikte ileri yaşlarda görülme oranı 1/100'e kadar yükselir (4).

Gen polimorfizmleri, etnik ve coğrafi farklılıklar göstermekle birlikte, popülasyonlarda yaygın olarak görülür (5). Polimorfizm çalışmalarında kullanılan hasta ve kontrol grupları, farklı allel frekanslarının ve farklı hastalık risklerinin ortaya çıkmasına sebep olması nedeniyle önemlidir. Bu yüzden, oluşan polimorfizmlerin hastalık üzerindeki etkileri de çalışma gruplarına bağlı olarak değişebilir (6).

Polimorfizmlere bağlı VTE gelişme riski, genetik zemin ve gen-çevre etkileşimiyle bağlantılı olabilir. VTE

gelişiminde, birden çok genetik faktörün rol aldığı düşünülmektedir (7). Günümüzde VTE'nin etyolojik değerlendirilmesinde; FVL mutasyonu, protrombin G20210A mutasyonu, MTHFR C677T (metilen tetrahidrofolat redüktaz) mutasyonu, MTHFR A1298C mutasyonu, MTHFR enzim eksikliği, açlık serum homosistein düzeyi, lupus antikoagülan (LA), antikardiyolipin antikorları (ACA), antitrombin (AT) eksikliği, protein S (PS) eksikliği ve protein C (PC) eksikliğine bakılmaktadır (8, 9).

Renin anjiyotensin sistemi (RAS), farklı mekanizmalar aracılığıyla hemostazı etkiler. ACE, bradikininini degrade eden anjiyotensin I'i, anjiyotensin II'ye dönüştürerek, fibrinoliz, trombosit agregasyonu ve kanama pıhtılaşma aktivasyonu gibi pek çok biyolojik aktivasyonun düzenlenmesinde rol oynar (1). Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), plazmadaki plazminojen aktivatörlerinin primer inhibitörüdür. PAI-1'in yüksek seviyeleri, tromboza yatkınlığı artıran hipofibrinolitik durum oluşturabilir (10). Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) insersiyon/delesyon (I/D) ve PAI-1 4 Guanozin/5 Guanozin (4G/5G) polimorfizmleri, trombotik risk oluşturmundaki rolleri nedeniyle VTE'li olgularda araştırılan genetik faktörler arasında yer almaktadır (1).

Bu çalışmamızda, koagülasyon mekanizması üzerindeki etkilerinden dolayı, ACE I/D ve PAI-1 4G/5G polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda VTE gelişimiyle ilişkisini ortaya koymayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Etik Kurulu tarafından 20 Ekim 2011 tarihinde (No: 181) onaylanmıştır. Çalışmaya, Tıbbi Genetik Bilim Dalına VTE ön tanısıyla müracaat eden 80 hasta ile 79 kontrol grubu dahil edildi.

Genotiplendirme

Hasta ve kontrol gruplarından alınan EDTA'lı periferik kan örneklerinden, Nucleospin DNA izolasyon kiti (MN, Almanya) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına göre DNA izolasyonu yapılmıştır. ACE geni I/D polimorfizm analizi Rigat ve arkadaşlarının tanımlamış olduğu yöntemle yapılmış olup, ACE I/D Forward: 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3' ve ACE I/D Reverse: 5'- GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3' primerleri kullanıldı (11). PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi Muetze ve arkadaşlarının tanımlamış olduğu "allel spesifik amplifikasyon" polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle yapılmış olup, primer dizisi aşağıda yer almaktadır. 4G allelini belirlemek için internal kontrol primerleri; Forward: 5'-TGC AGC CAG CCA CGT GAT TGT CTA G-3', Reverse: 5'-AAG CTT TTA CCA TGG TAA CCC CTG GT-3' ve 4G alleleline spesifik 5'-GTC TGG ACA CGT GGG GA-3' primeri kullanıldı. 5G

allelini belirlemek için internal kontrol primerleri; Forward: 5'-TGC AGC CAG CCA CGT GAT TGT CTA G-3', Reverse: 5'-AAG CTT TTA CCA TGG TAA CCC CTG GT-3' ve 5G alleleline spesifik 5'-GTC TGG ACA CGT GGG GG-3' primeri kullanıldı (12).

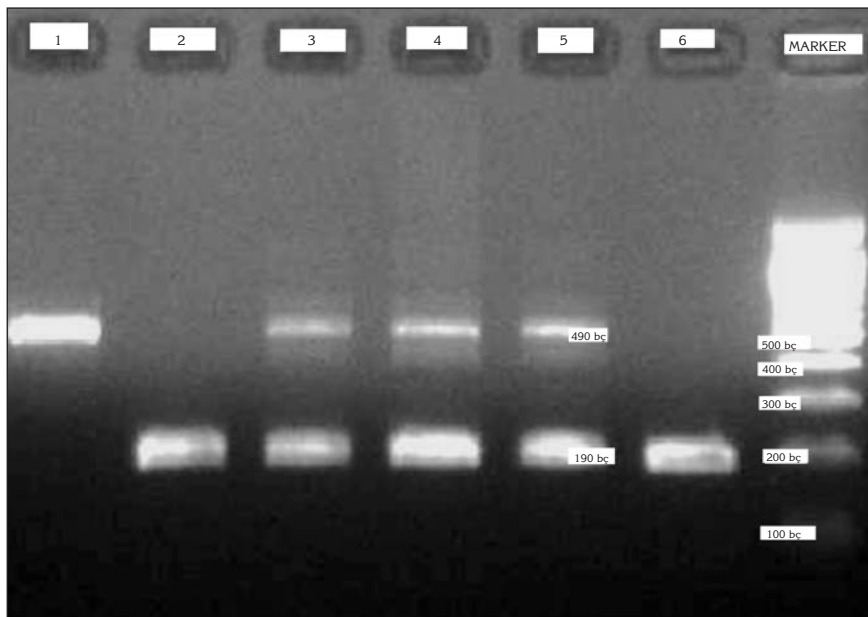
ACE geni I/D ve PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmine ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforeziyle görüntülendi (Resim 1,2).

İstatistiksel Analizler

Hasta ve kontrol gruplarının ACE I/D ve PAI-1 4G/5G polimorfizmlerinin karşılaştırılmasında Hardy Weinberg testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler kesikli veriler için sayı (%), sürekli veriler için ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumları tek örnek Kolmogorov Smirnov testiyle değerlendirildi ve buna uygun test seçimi yapıldı. Grupların yaş karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi, gruplar arasında polimorfizm sıklıklarının karşılaştırılmasında ki-kare testleri kullanıldı. İstatistiksel kararlarda $p \leq 0.05$ düzeyi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

BULGULAR

ACE I/D ve PAI-1 4G/5G polimorfizm analizinde 80 VTE hastası ve 79 kontrol grubuna ait kan örneğinden izole edilen DNA'lar kullanıldı. Hasta grubunun yaş ortalaması 35.90 ± 15.98 yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması 36.35 ± 7.47 yıl idi. Hasta grubunda 58 (%72.5)



Resim 1. ACE geni PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker); 1 no'lu kuyucuk I/I genotipine, 2 ve 6 no'lu kuyucuklar D/D genotipine (190 bp), 3, 4 ve 5 no'lu kuyucuklar ise I/D genotipine (190 bp, 490 bp) sahip olguları göstermektedir.



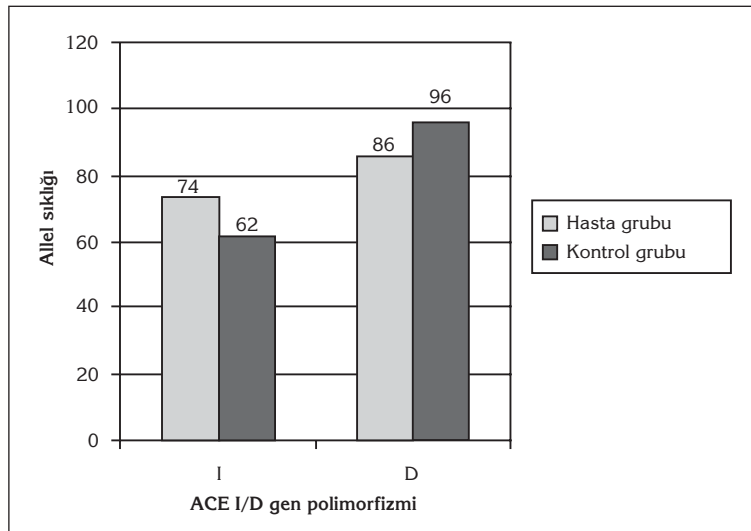
Resim 2. 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G genotipli olguların PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde görünümü (MARKER; 100 bp DNA ladder).

erkek, 22 (%27.5) kadın hasta vardı. Kontrol grubu ise 54 (%68.4) erkek, 25 (%31.6) kadın bireyden oluşmaktaydı.

Hasta ve kontrol grubu, I/D polimorfizmleri allel frekansları açısından incelendiğinde, hasta grubunda, I alleli 74 (%46.3), D alleli 86 (%53.7) olarak saptandı. Kontrol grubunda ise I alleli 62 (%39.2), D alleli 96 (%60.8) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ACE I/D allel frekansları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0.207$) (Şekil 1). Hasta ve kontrol grubunun ACE I/D gen polimorfizmi açısından değerlendirilmesi sonucunda; hastaların 15 (%18.8)'i ACE I/I genotipine sahipken bu sayı kontrol grubunda 10 (%12.7) kişi idi. ACE I/D genotipine hasta grubunda 44 (%55) kişi sahipken, kontrol grubunda 42 (%53.2) kişi sahipti. Hasta grubunda ACE D/D genotipine sahip 21 (%26.3) kişi bulunurken, bu genotip

kontrol grubunda 27 (%34.2) kişide mevcuttu. ACE I/D polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılması sonucunda aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 1).

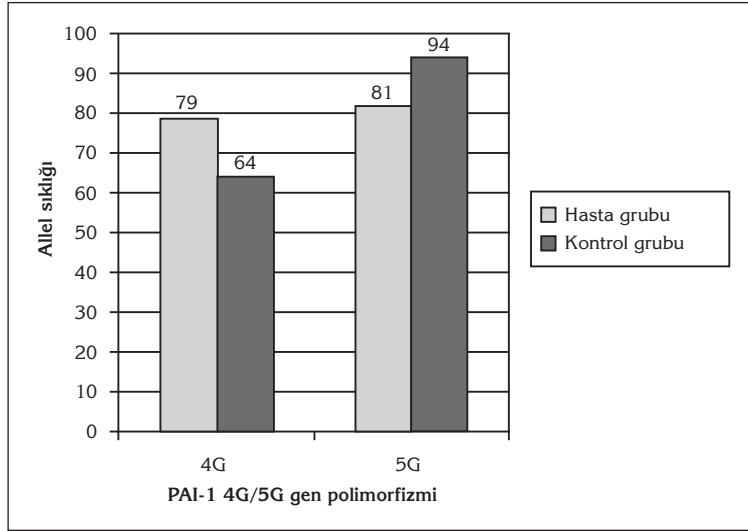
Hasta ve kontrol grubu, 4G/5G polimorfizmleri allel frekansları açısından incelendiğinde, hasta grubunda 4G alleli 79 (%49.4), 5G alleli 81 (%50.6) olarak saptandı. Kontrol grubunda ise 4G alleli 64 (%40.5), 5G alleli 94 (%59.5) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında 4G ve 5G allel frekansları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0.121$) (Şekil 2). Hasta ve kontrol grubunun PAI-1 polimorfizmi açısından karşılaştırılması sonucunda, hasta grubunda 4G/4G genotipine sahip 18 (%22.5) kişi bulunurken, kontrol grubunda bu genotipe sahip 14 (%17.7) kişi vardı. 4G/5G genotipi hasta grubunda 43 (%53.8) kişide varken, kontrol grubunda 36 (%45.6) kişide bulunmaktaydı. 5G/5G



Şekil 1. Hasta ve kontrol gruplarında ACE geni I/D polimorfizminin allel sıklıklarının dağılımı.

Tablo 1. ACE geni I/D polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubunun değerlendirilmesi.

		Hasta grubu (n= 80)	Kontrol grubu (n= 79)	p
ACE geni I/D polimorfizmi	I/I genotipi	15 (%18.8)	10 (%12.7)	0.409*
	I/D genotipi	44 (%55.0)	42 (%53.2)	
	D/D genotipi	21 (%26.3)	27 (%34.2)	
* Ki-kare test.				



Şekil 2. Hasta ve kontrol gruplarında PAI-1 geni 4G/5G polimorfizminin allel sıklıklarının dağılımı.

genotipi ise hasta grubunda 19 (%23.8) kişide, kontrol grubunda ise 29 (%36.7) kişide mevcuttu. PAI-1 polimorfizmi açısından, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Polimorfizmlere bağlı VTE gelişme riski, genetik zemin ve gen-çevre etkileşimiyle bağlantılı olabilir. VTE gelişiminde, birden çok genetik faktörün rol aldığı düşünülmektedir (7). ACE ve PAI-1, sırasıyla trombosit agregasyonu ve fibrinolizde fonksiyon gören önemli proteinlerdendir. Bu nedenle ACE ve PAI-1 polimorfizmleri, trombotik risk oluşumundaki rolleri nedeniyle VTE'li olgularda araştırılan genetik belirteçler arasında yer al-

maktadır. Bu çalışmamızda, koagülasyon mekanizması üzerindeki etkilerinden dolayı, Türk popülasyonunda ACE I/D ve PAI-1 4G/5G polimorfizmlerinin VTE gelişimindeki etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

PAI-1, hem doku plazminojen aktivatörünü hem de ürokinaz plazminojen aktivatörünü inaktive eden, plazmada bulunan bir inhibitördür. PAI-1'in serum seviyeleri genetik faktörlerle ilişkili olup, yüksek serum seviyeleri, trombotik yatkınlığı artırarak hipofibrinolitik durum oluşumuna katkıda bulunur. PAI-1 geni yedinci kromozomda lokalize olup, promotör bölgesinde yer alan 4G/5G polimorfizmi ile VTE arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur (10,13-17). Bu çalışmaların bazılarında PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi VTE ile

Tablo 2. PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grubunun değerlendirilmesi.

		Hasta grubu (n= 80)	Kontrol grubu (n= 79)	p
PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi	4G/4G genotipi	18 (%22.5)	14 (%17.7)	0.202*
	4G/5G genotipi	43 (%53.8)	36 (%45.6)	
	5G/5G genotipi	19 (%23.8)	29 (%36.7)	
* Ki-kare test.				

ilişkili olarak saptanmışken, bir kısmında ise bu ilişki gösterilememiştir (13).

Tsantes ve arkadaşlarına göre, PAI-1 4G/5G polimorfizmi, tromboza ailesel yatkınlığı olan hastalarda trombotik risk için önemli bir rol oynamaktadır (18). Bu çalışmaya göre, 4G/5G polimorfizmi diğer predispozan genetik risk faktörleriyle birlikte olduğunda klinik belirtiler daha belirgin hale gelmektedir ve PAI-1 4G/5G polimorfizmi, inme veya miyokard infarktüsüne göre VTE gelişme riskini daha fazla artırmaktadır.

Tsantes ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer meta-analiz çalışmasında, 2644 VTE hastası ve 3739 kontrol olgusu değerlendirilmiş olup, 4G alleli, yüksek PAI-1 seviyesiyle bağlantılı bulunmuş ve 4G allel varlığının, özellikle diğer genetik risk faktörleri olmayan kişilerde venöz tromboz riskini artırdığı gösterilmiştir (13).

DVT'li hastalarda, PAI-1 seviyesi ve PAI-1 4G/5G polimorfizminin ilişkisini gösteren farklı popülasyonlarda yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Hindistan ve beyaz popülasyonlarda, DVT olguları ve PAI-1 4G/5G polimorfizimleri arasındaki ilişkinin incelendiği iki farklı çalışmada, hasta gruplarında 4G allel sıklığı, kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (19,20).

Segui ve arkadaşlarının 190 DVT hastası ve 152 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları PAI-1 4G/5G polimorfizm çalışması sonucunda, hasta ve kontrol grupları arasında 4G ve 5G allel dağılımı açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, 4G allel varlığının; diğer trombofilik defektleri olan hastalarda tromboz riskini önemli ölçüde artırdığını saptamışlardır (16). Ridker ve arkadaşlarının, 374 miyokard infarktüsü, 121 VTE hastası ve 14.916 kontrol olgusundan oluşan çalışmasında yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklı olarak PAI-1 4G/5G genotipi ve VTE arasında anlamlı bir ilişki olmadığını saptamışlardır (14).

Türkiye'de de VTE'li hastalarda PAI-1 gen polimorfizmini araştıran çalışmalar mevcuttur. Küpeli ve arkadaşlarının 80 VTE (derin ven trombozu ve pulmoner emboli) hastası ile 104 kontrol grubunda yaptıkları çalışmada, PAI-1 genotipi açısından bir farklılık bulamamışlardır (21). Oğuzülgen ve arkadaşlarının, 143 pulmoner tromboemboli hastası ve 181 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada da PAI-1 geni yönünden bir ilişki gözlenmemiştir (10).

Akar ve arkadaşları 136 DVT ve 133 kontrol grubu üzerinde yaptıkları PAI-1 4G/5G polimorfizm çalışması sonucunda, PAI-1 4G/5G polimorfizminin trombotik risk üzerinde bir etkisi olmadığını saptamışlardır (22). Gürgey ve arkadaşları 50 Behçet hastası üzerinde yaptıkları PAI-1 4G/5G polimorfizm çalışması sonucunda,

tromboz gelişimiyle PAI-1 4G/5G polimorfizmi arasında istatistiksel olarak bir ilişki saptamamışlardır (23).

Bizim, 80 VTE hastası ve 79 kontrol grubu üzerinde yaptığımız PAI-1 gen polimorfizm çalışması sonucunda, hasta grubunda, 4G allel sıklığının daha fazla çıkmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmedi. Çalışma sonuçlarımız, diğer literatür çalışmalarıyla birlikte değerlendirildiğinde, PAI-1 4G/5G polimorfizminin diğer toplumlardan farklı olarak VTE gelişiminde bir rolü olmadığını düşündürmektedir. Bu sonuç, gen polimorfizmlerinin hastalık etyopatogenezinde gen-çevre etkileşimlerine bağlı olarak farklı etkiler oluşturabildiği savımızı destekler niteliktedir.

ACE, RAS'ta yer alan bir enzimdir. ACE, anjiyotensin I'i, vazokonstriktör bir madde olan, trombosit agregasyonunu ve aktivasyonunu artırarak fibrinolizi inhibe eden anjiyotensin II'ye dönüştürür. Bu enzim aynı zamanda potansiyel vazodilatör bir madde olan ve inflamasyon oluşmasına aracılık eden bradikininin degrade eder (24). ACE polimorfizmi ilk kez Rigat ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olup, D/D, I/D ve I/I olmak üzere üç farklı genotipi vardır (3,11). ACE polimorfizminin VTE ile ilişkisi hakkında literatürde çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmi ile benzer şekilde VTE ve ACE I/D polimorfizmi arasında ilişki saptanmışken, bir kısmında bu ilişki gösterilememiştir.

Hsieh ve arkadaşları 176 VTE hastası ve 321 kontrol grubunda, ACE I/D polimorfizmini karşılaştırdıkları çalışmada, ACE I/D polimorfizminin genotip dağılımında, VTE hastası ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark bulamamışlardır. Yine aynı çalışmada, D allel varlığının VTE gelişimine karşı koruyucu olabileceğini öngörmüşlerdir (25). Hsiao ve arkadaşları ACE I/D polimorfizmi ile VTE arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, 7000 birey üzerinde yapılmış 14 çalışmayı kapsayan bir meta-analiz çalışması gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmaların beşinde, ACE D/D genotipi ile VTE gelişimi arasında ilişki saptanırken üç çalışmada D/D genotipinin VTE'ye karşı koruyucu olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer altı çalışmada ise istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar saptayamamışlardır (7). Çalışma grupları arasındaki bu farklılıkların, etnik heterojenite, çalışma düzeni farklılıkları, çalışmaya dahil olan hastaların geniş spektrumlu özellikleri, gen-gen ve gen-çevre etkileşimlerinden kaynaklanabileceğini ifade ederek, ACE I/D polimorfizmi ile VTE riski arasında pozitif bir ilişki olmadığı tespitinde bulunmuşlardır.

Lu ve arkadaşlarının 72 pulmoner emboli hastası ve eşit sayıda kontrolden oluşan Çin popülasyonunda

ACE I/D polimorfizmini araştırdıkları çalışmada, D/D genotip taşıyan bireyler için pulmoner tromboemboli riskini artırdığını saptamışlardır. Aynı çalışmada, Asyalı bireyler arasında II genotipinin diğer etnik gruplara göre yüksek prevalansa sahip olduğunu göstermişlerdir (26). Fatini ve arkadaşları 336 VTE hastası ve 378 sağlıklı kontrol grubundan oluşan İtalyan popülasyonunda yaptıkları çalışmada, ACE D/D gen polimorfizmi ile VTE arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır (1). Philipp ve arkadaşları 85 kalça artroplastili VTE hastası ile 43 kontrol olgusunda yaptıkları araştırmada, trombotik olayların ACE D/D genotipli olgularda ACE I/I genotipine göre 10 kat, ACE I/D genotipine sahip olgularda ise ACE I/I genotipli olgulara göre beş kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, ACE polimorfizminin kalçaya yönelik artroplastili yapılan olgularda tromboz yönünden bir risk olabileceği bildirilmiştir (27). Köppel ve arkadaşları VTE tanılı 330 hasta ile 354 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada, ACE I/D polimorfizminin derin ven trombozu için önemli bir risk faktörü olmadığını tespit etmişlerdir (28).

Ay ve arkadaşları 100 VTE hastası ve 125 kontrol grubunda yaptıkları ACE I/D polimorfizm çalışması sonucunda, serum ACE düzeyleri ile ACE I/D polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki saptayamamışlardır (29). “Pulmoner emboli olgularında ACE polimorfizmi” başlıklı uzmanlık tez çalışmasında, 73 pulmoner emboli hastası ve 73 sağlıklı kontrol, ACE gen polimorfizmi ile pulmoner emboli arasındaki ilişki yönünden araştırılmış ve ACE I/D gen polimorfizmi ile pulmoner emboli arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (30). Berdeli ve arkadaşları 1063 sağlıklı birey üzerinde ACE I/D polimorfizm sıklığını araştırdıkları çalışma ile ACE I/I genotip sıklığını %16.1, I/D genotip sıklığını %47.7 ve D/D genotip sıklığını %36.2 olarak bulmuşlardır. ACE I/D gen polimorfizm sıklığının benzer olduğunu saptamışlardır (31). Çalışmamızda yer alan kontrol grubu hastalarında Berdeli ve arkadaşlarının çalışmasıyla benzer şekilde, ACE I/I genotip sıklığı %12.7, ACE I/D genotip sıklığı %53.2, ACE D/D genotip sıklığı ise %34.2 olarak tespit edilmiştir. İki çalışma arasındaki sapmalar, olgu sayılarının farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte benzer sonuçların elde edilmiş olması sağlıklı popülasyonda ACE I/D polimorfizminin sıklığı hakkında bilgi verici niteliktedir.

Çalışma sonuçlarımız ACE I/D ve PAI-1 4G/5G polimorfizmleri ile VTE gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını gösterse de daha yüksek sayıda hasta ve kontrol grubu ile bu çalışmanın genişletilerek yapılması, toplumumuzda görülen VTE olgularıyla ilgili polimorfizmlerin ilişkisinin ortaya konulmasında daha sağlıklı verilerin elde edilmesini sağlayacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Fatini C, Gensini F, Sticchi E, Battaglini B, Prisco D, Fedi S, et al. ACE DD genotype: an independent predisposition factor to venous thromboembolism. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 642-7.
2. Anderson FA Jr, Wheeler HB, Goldberg RJ, Hosmer DW, Patwardhan NA, Jovanovic B, et al. A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Arch Intern Med* 1991; 151: 933-8.
3. Munhoz TP, Scheibe RM, Schmitt VM. Angiotensin converting enzyme (ACE) DD genotype: relationship with venous thrombosis. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2005; 27: 87-90.
4. Forster AJ, Wells PS. The rationale and evidence for the treatment of lower-extremity deep venous thrombosis with thrombolytic agents. *Curr Opin Hematol* 2002; 9: 437-42.
5. Deligezer U, Akisik E. Gene polymorphism analysis using LightCycler fluorescence PCR technique: determine the distribution of MTHFR C677T gene polymorphism in patients with myeloid leukemia in children and adults. *Turkish Journal of Oncology* 2004; 19: 134-9.
6. Karaca E. Investigation of Interleukin 10 Gene Polymorphisms in Patients with Coronary Artery (thesis). İzmir: Ege University, Institute of Health Sciences; 2007.
7. Hsiao FC, Hsu LA. Meta-analysis of association between insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and venous thromboembolism. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17: 51.
8. Sisli E. Evaluation of patients with venous thromboembolism in clinical quality, risk factors and genetic mutations (thesis). İzmir: Dokuz Eylül University Faculty of Medicine; 2010.
9. Caprini JA, Goldshteyn S, Glase CJ, Hathaway K. Thrombophilia testing in patients with venous thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30: 550-5.
10. Oguzulgen IK, Yilmaz E, Demirtas S, Erkeköl FO, Ekim N, Demir N, et al. The role of plasminogen activator inhibitor-1 polymorphism, factor-V-Leiden, and prothrombin-20210 mutations in pulmonary thromboembolism. *Clin Appl Thromb Hemost* 2009; 15: 73-7.
11. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res* 1992; 20: 1433.
12. Muetze S, Eggermann T, Leeners B, Birke C, Kuse S, Ortlepp JR, et al. The 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is not associated with HELLP syndrome. *J Thromb Thrombolysis* 2009; 27: 141-5.
13. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Rapti E, Mantzios G, Kapsimali V, et al. Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and venous thrombosis. A meta-analysis. *Thromb Haemost* 2007; 97: 907-13.

14. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Miletich JP. Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* 1997; 95: 59-62.
15. Stegnar M, Uhrin P, Peternel P, Mavri A, Salobir-Pajnic B, Stare J, et al. The 4G/5G sequence polymorphism in the promoter of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene: relationship to plasma PAI-1 level in venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 79: 975-9.
16. Seguí R, Estellés A, Mira Y, España F, Villa P, Falcó C, et al. PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional risk factor for venous thrombosis in subjects with genetic thrombophilic defects. *Br J Haematol* 2000; 111: 122-8.
17. Sartori MT, Danesin C, Saggiorato G, Tormene D, Simioni P, Spiezia L, et al. The PAI-1 gene 4G/5G polymorphism and deep vein thrombosis in patients with inherited thrombophilia. *Clin Appl Thromb Hemost* 2003; 9: 299-307.
18. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaiopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res* 2008; 122: 736-42.
19. Akhter MS, Biswas A, Ranjan R, Meena A, Yadav BK, Sharma A, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene 4G/5G promoter polymorphism is seen in higher frequency in the Indian patients with deep vein thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010; 16: 184-8.
20. Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Environmental and genetic factors in relation to elevated circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1 in Caucasians patients, with non insulin dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 1995; 74: 842-7.
21. Kupeli E, Verdi H, Simsek A, Atac FB, Eyuboglu FO. Genetic mutations in Turkish population with pulmonary embolism and deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17: E87-94.
22. Akar N, Yilmaz E, Akar E, Avcu F, Yalçın A, Cin S. Effect of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in Turkish deep vein thrombotic patients with and without FV1691 G-A. *Thromb Res* 2000; 97: 227-30.
23. Gurgey A, Balta G, Boyvat A. Factor V Leiden mutation and PAI-1 gene 4G/5G genotype in thrombotic patients with Behcet's disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2003; 14: 121-4.
24. Hsiao FC, Hsu LA. Meta-analysis of association between insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and venous thromboembolism. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17: 51-7.
25. Hsieh CA, Ko YL, Hsu TS, Chang CJ, Teng MS, Wu S, et al. Angiotensin-I converting enzyme gene polymorphisms and the risk of venous thromboembolism in an ethnically Chinese population living in Taiwan. *Acta Cardiol Sin* 2011; 27: 41-7.
26. Lu Y, Hui R, Zhao Y. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene and pulmonary thromboembolism in Chinese population. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2001; 24: 265-8.
27. Philipp CS, Dilley A, Saidi P, Evatt B, Austin H, Zawadsky J, et al. Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene as a thrombophilic risk factor after hip arthroplasty. *Thromb Haemost* 1998; 80: 869-73.
28. Köppel H, Renner W, Gugl A, Cichocki L, Gasser R, Wascher TC, et al. The angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism is not related to venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2004; 91: 76-9.
29. Ay C, Bencur P, Vormittag R, Sailer T, Jungbauer C, Vukovich T. The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and serum levels of angiotensin-converting enzyme in venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2007; 98: 777-82.
30. Yesilkaya S. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism in Patients with Pulmonary Thromboembolism (thesis). Bursa: Uludag University Faculty of Medicine; 2009.
31. Berdeli A, Cam FS. Prevalence of the angiotensin I converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in a healthy Turkish population. *Biochem Genet* 2009; 47: 412-20.