

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim Gen Polimorfizminin Erken Koroner Arter Hastalığı Gelişimindeki Rolü

Dr. Tamer AKBULUT, Dr. Tuba BİLSEL, Dr. Hüseyin UYAREL, Dr. Sait TERZİ, Dr. Nurten SAYAR, Dr. Alper AYDIN, Dr. Şennur Ünal DAYI, Dr. Figen ÇİLOĞLU*, Dr. Bayram BAĞIRTAN, Prof. Dr. İsmail PEKER, Doç. Dr. Kemal YEŞİLÇİMEN**

Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi, Kardiyoloji Kliniği, İstanbul

**GENLAB Medikal Tanı ve Araştırma Laboratuvarı, İstanbul*

***Marmara Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Fakültesi, İstanbul*

Özet

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) gen polimorfizminin çeşitli kardiyovasküler patolojilere olan etkisi tartışılmaktadır. Biz de çalışmamızda bu genetik faktörün Türk toplumunda erken koroner arter hastalığı gelişimi üzerine etkisini araştırmayı amaçladık. Koroner arter hastalığı tespit edilmiş 50 yaş ve daha altındaki 139 olgunun konvansiyonel risk faktörleri ve ACE genotip dağılımları, aynı yaş grubundaki koroner arter hastalığı tespit edilmeyen 67 olguyla karşılaştırıldı.

Erken koroner arter hastalığı tespit edilen ve edilmeyen her iki gruptaki ACE genotip dağılımı benzer şekildedir. (Çalışma grubunda ACE III: %13.7; ACE I/D: %59; ACE D/D: %27.3; kontrol grubunda ACE III: %17.9, ACE I/D: %57.2, ACE D/D: %27.9). ACE D/D genotipinin erken koroner arter hastalığı relatif risk oranı 0.88 ($p > 0.05$) ve D alelinin relatif risk oranı 1.03 ($p > 0.05$) bulundu. Buna karşın total kolesterol seviyesi, HDL kolesterol seviyesi, LDL kolesterol seviyesi, sigara kullanımı, vücut kitle indeksi ve diyabet sıklığı erken koroner arter hastalığı tespit edilen grupta istatistiksel anlamlı şekilde farklı bulundu.

Sonuç: Sınırlı bir örnekleme dayanan gözleme göre, ACE gen polimorfizmi Türk toplumunda erken koroner arter hastalığı gelişiminde rol oynayan bir faktör olarak görünmemektedir. (Türk Kardiyol Dern Arş 2004; 32: 23-27)

Anahtar kelimeler: ACE genotipi, erken koroner arter hastalığı

Summary

The Role of Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphism in the Development of Premature Coronary Artery Disease

Angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism has been associated with many cardiovascular pathologies. The goal of our study was to assess the association of ACE gene polymorphism with premature coronary artery disease in Turkish population sample. A total of 139 young patients (≤ 50 years) with coronary artery disease were evaluated in regard to ACE gene polymorphism and conventional coronary risk factors. The findings were analyzed and compared with those of 67 healthy young persons. Both allele frequencies and ACE genotype distribution did not differ substantially between groups (ACE III: %13.7; ACE I/D: %59; ACE D/D: %27.3 in the study group and; ACE III: %17.9, ACE I/D: %57.2, ACE D/D: %27.9 and in the control group). The odds ratios were 0.88 for D homozygotes ($p > 0.05$) and 1.03 for the D allele ($p > 0.05$). On the other hand, the other variables (smoking, plasma cholesterol level, obesity, and diabetes mellitus) were found to be related to the development of premature coronary artery disease. Conclusion: ACE gene polymorphism does not seem to be associated with premature coronary artery disease in the studied, limited-sized Turkish sample population. (Türk Kardiyol Dern Arş 2004; 32: 23-27)

Key words: ACE genotype, premature coronary artery disease

Renin anjiyotensin aldosteron sisteminin kardiyovasküler hastalıkların patogeneziindeki rolü bilinmektedir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) anjiyotensin I'den anjiyotensin II'ye dönüşümü ve vazodilatatör etkili bradikininin parçalanmasını sağlar. Anjiyotensin II güçlü bir vazokonstriktör madde olup, hipertrofi uyarıcı etkiye sahiptir. ACE inhibisyonunun sol kalp yetersizliği olan hastalarda mortaliteyi azalttığı, koroner arter hastalığı primer sekonder korumasında etkin olduğu bilinmektedir (1-4). Serum ve doku ACE düzeyleri ACE genindeki insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmiyle ilişkilidir. Anjiyotensin II düzeyi homozigot D aleline sahip kişilerde (17. kromozomda bulunan ACE geninin 16. intronundaki 287 baz çiftinin eksikliği), heterozigot veya homozigot I alleli kişilere göre daha yüksektir (5,6). ACE gen polimorfizminin kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkileri üzerine çelişkili bildiriler mevcuttur. Sol ventrikül hipertrofisiyle ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişki genel olarak kabul edilmiştir. Buna göre D/D genotipine sahip bireylerde sol ventrikül ve kalp kitlesinin daha fazla olduğu görülmüştür (7-9). Hipertansiyon ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda genellikle belirli bir ilişki saptanmamıştır (10,11). Bazı araştırmacılar koroner arter hastalığı, iskemik ve idiyopatik kardiyomiyopatiyle ilişkili olduğuna dair raporlar bildirmişken, yine başkaları bu durumun aksini gösteren sonuçlara varmışlardır (12-15). Türk toplumunda ACE gen polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklarla ilgili daha önce yapılmış çeşitli yayınlar mevcuttur. Buna göre bazı yazarlar koroner arter hastalığı olan grupta D alel sıklığını fazla bulurken başkaları arada anlamlı fark bulamamıştır (16-19). Tip II diabetik Türk hastalarda hipertansiyon, mikrovasküler komplikasyon ve ateroskleroz gelişimi üzerine ACE genotipinin etkisi bulunmamıştır (19-21). Buna karşılık ciddi esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda D alelinin rolü olabileceği düşünülmüş, bir başka çalışmada da esansiyel hipertansiyonlu hastalarda ACE genotipinin sol ventrikül hipertrofisi üze-

rine etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (22,23). Türk toplumunda ACE gen polimorfizminin erken koroner arter hastalığı gelişimine etkisi üzerine yayınlanmış araştırmaya rastlamadık.

Bu çalışmanın amacı Türk toplumunda erken koroner arter hastalığı gelişiminde ACE gen polimorfizminin rolünü araştırmak ve sonuçları bu konuyla ilgili daha önce yapılmış çalışmalarla karşılaştırarak, tartışmaktır.

YÖNTEMLER

Çalışmaya 50 yaş ve daha altında 181'i erkek toplam 206 olgu alındı. Kendilerinde erken koroner arter hastalığı tespit edilmiş (anjiyografik olarak epikardiyal koroner arterlerde %50 den fazla lümen diameter darlık ve/veya geçirilmiş miyokard infarktüsüne ait objektif bulguların varlığı) 139 rastgele hasta çalışma grubunu ve atipik göğüs ağrısı nedeniyle hastanemize başvuran, koroner anjiyografilerinde normal bulgular saptanan ve/veya miyokard perfüzyon sintigrafilerinde anormallik tespit edilmeyen 67 rastgele olgu da kontrol grubunu oluşturdu. Tüm olguların ACE genotipleri analiz edildi. Bu amaçla deoxyribonukleik asit (DNA) tam kandan proteinaz K ile, kırmızı hücrelerin hemolizi ve hücre pelletinin sindirilmesi yoluyla sağlandı. Elde edilen DNA genotip tayinine kadar -20°C de saklandı. Genotip tayini polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve PCR materyalinin jel elektroforeziyle değerlendirilmesi neticesi yapıldı. ACE I/D genotipine sahip olguların yanlışlıkla D homozigot olarak değerlendirilmesini önlemek amacıyla, D homozigot olarak tespit edilen DNA'lar insersiyon-spesifik bir "primer çiftiyle" tekrar işleme tabi tutuldular. Genotiplemeyle uğraşan laboratuvar görevlileri klinik bulgulardan habersizdiler. Bütün olgularda klinik ve lipid laboratuvar bulguları kaydedildi. Daha önce bir paket yıldan daha fazla sigara içimi olanlar, sigara içimi pozitif olarak değerlendirildiler. Birinci derece akrabalarında 55 yaşından önce aterosklerotik kardiyovasküler olay veya ani ölüm hikayesi olanlar, pozitif aile anamnezine sahip olarak kabul edildiler.

İstatistiksel analizler SPSS 10.0 programıyla gerçekleştirildi. Bütün kantitatif değerler ± 1 standart sapma olarak verildi. Çalışma ve kontrol grubundaki kategorik değişkenler ki-kare testiyle, kantitatif değişkenler eşlendilmemiş t-test ile karşılaştırıldılar. ACE genotipinin koroner arter hastalığıyla ilgili relatif ris-

ki odds oranı hesaplamasıyla yapıldı, p-değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma grubundaki olgular 43.3 ± 4.7 yaşında ve 125'i (89%) erkekdi. Kontrol grubundaki olguların ise yaşları 41.9 ± 6.1 olup, 56'sı (83%) erkekdi. Koroner arter hastalığı mevcut olan olguların, kontrol grubundaki olgulara göre total kolesterol, LDL-kolesterol düzeyleri, vücut kitle indeksleri anlamlı olarak yüksek ve bu grupta sigara içme oranıyla diabetes mellitus sıklığı anlamlı olarak fazla bulunurken, HDL kolesterol düzeyleri düşük bulundu. Çalışma grubundaki hastaların trigliserid düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde daha yüksek, aynı şekilde pozitif aile anamnezi, hipertansiyon sıklıkları da anlamlı olmayan şekil-

de fazla bulundu. Çalışmamızda 31 hastada ACE I/I (%15), 117 hastada ACE I/D (%56.8) ve 58 hastada da ACE D/D (%28.2) genotipi tespit edildi (Çalışma grubunda ACE I/I: %13.7; ACE I/D: %59; ACE D/D: %27.3; kontrol grubunda ACE I/I: %17.9, ACE I/D: %57.2, ACE D/D: %27.9). ACE D/D genotipinin erken koroner arter hastalığı için relatif risk oranı 0.88 ($p=0.7$, %95 güvenilirlik aralığı 0.465-1.681), D alelinin relatif risk oranı 1.03 ($p=0.8$, %95 güvenilirlik aralığı 0.684-1.569) bulundu (Tablo 1).

Cinsiyetlere göre yapılan subgrup analizlerinde de, erken koroner arter hastalığı gözlenen grupta kontrollere oranla farklı bir genotip dağılımı tespit edilmedi (erkeklerde koroner arter hastalığı olanlarda D alel frekansı 0.56, olmayanlarda 0.58, $p=0.7$). Aynı şekilde miyokard infarktusü geçiren ve geçirmeyen olguların subgrup analizlerinde de farklılık bulunmadı (D alel sıklığı her iki grupta 0.56, $p=0.8$).

Tablo 1. Çalışma ve kontrol grubundaki hastaların demografik ve klinik özellikleriyle, ACE genotipleme sonuçları

	KAH(+) N=139	KAH(-) N=67	p değeri
Yaş (yıl)	43.3±4.7	41.9±6.1	a.d
Cinsiyet (erkek/bayan)	11/2	27/7	a.d
Sigara kullanımı	98 (70)	27 (40)	0
Hipertansiyon	52 (37)	19 (28)	a.d
Diabetes mellitus	27 (19)	5 (7)	0.03
Aile anamnezi	55 (39)	23 (34)	a.d
Total kolesterol (mg/dl)	213±47	198±25	0.01
HDL-kolesterol (mg/dl)	33±8	37±8	0
LDL-kolesterol (mg/dl)	142±40	126±22	0
Trigliserit (mg/dl)	178±76	160±68	a.d
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	27.2±3.6	26.0±2.7	0.01
D alel frekansı	0.56	0.55	a.d
D/D genotipi	38 (27.3)	20 (29.9)	a.d
I/D genotipi	82 (59.0)	35 (52.2)	a.d
I/I genotipi	19 (13.7)	12 (17.9)	a.d

D: delesyon, I: insersiyon, KAH: koroner arter hastalığı, parentez içinde oranlar bildirilmiştir, a.d: anlamlı değil.

TARTIŞMA

Çalışma ve kontrol gruplarımızda ACE genotip dağılımında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (Çalışma grubunda ACE I/I: %13.7; ACE I/D: %59; ACE D/D: %27.3; kontrol grubunda ACE I/I: %17.9, ACE I/D: %57.2, ACE D/D: %27.9). D/D genotipinin ve D alelinin erken koroner arter hastalığı için relatif risk oranları sırasıyla 0.88 ve 1.03 olup, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu sonuçlar ACE D/D genotipi ve D alelinin erken koroner arter hastalığı gelişiminde rolü olmadığını düşündürmektedir. ACE gen polimorfizminin kalp kitlesi ve sol ventrikül hipertrofisi üzerine etkili olduğu ve D/D genotipine sahip bireylerde daha fazla olduğu genellikle kabul görmektedir (7-9). Türk toplumunda bu konuyla ilgili yapılmış Tezcan ve arkadaşlarının esansiyel hipertansiyonlu hastaları

sağlıklı kontrollerle karşılaştırdıkları çalışmalarında, sol ventrikül kitlesinin her üç genotip arasında anlamlı farklı bulmamışlardır⁽²³⁾. Toplumumuzda bu konuda etnik bir farklılık olabileceği gibi, aradaki fark hasta sayısının yetersiz oluşu ve istatistiksel farklılıktan kaynaklanıyor olabilir, çünkü bu çalışmada da D/D ve I/I genotipleri arasında sol ventrikül kitlesinde 14.5 ± 3.7 g/m² (D/D: 113 ± 37 g/m²; I/I: 96 ± 11 g/m²). ACE gen polimorfizminin hipertansiyon gelişimine katkısı olmadığı ya da katkının çok zayıf olduğu genellikle kabul görmektedir⁽¹⁰⁻¹¹⁾. Bedir ve ark. çalışmalarında bu duruma benzer sonuca ulaşırken, pozitif aile anamnezi olan ciddi hipertansif hastalarda yapılan subgrup analizinde normotansiflere oranla D/D genotip sıklığında artış gözlemişlerdir⁽²²⁾. Raynolds ve ark. ACE genotipi ile idiyopatik ve iskemik dilate kardiyomiyopati arasında ilişki bulmuşlar, ancak daha sonra yapılan çeşitli çalışmalar bu bulguyu desteklemeyen sonuçlara varmışlardır^(13,14). Hipertrofik kardiyomiyopati ile ilişkili az sayıda yayında da, D/D genotip ve D alelinin bu konuda rolü olabileceğini düşündürmektedir^(24,25). Koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü ile ACE gen polimorfizmi en çok yayın bulunan konulardan biri olmasına rağmen bu konuyla ilgili fikir birliği oluşmamıştır^(11,12,15). Toplumumuzda bu konuya ilişkin Tokgözoğlu ve arkadaşlarının koroner anjiyografi yapılmış 393 hastada elde ettikleri sonuçta göre, koroner arter hastalığı, miyokard infarktüsü olan ve olmayan grupta D alel frekansını sırasıyla 0.61 ve 0.62 bulmuşlardır⁽¹⁸⁾. Yine aynı çalışmada konvensiyonel risk faktörlerine göre koroner arter hastalığı yönünden düşük riskli gruplarda da D alel sıklığı farklı bulunmamıştır. Buna karşılık koroner arter hastalığı yaygınlığını gösteren Gensini skorlaması DD genotipi olanlarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Araz ve arkadaşları da tip II diyabetik hastalarda koroner arter hastalığı gelişenlerde ACE genotip farklılığı tespit etmemişlerdir⁽¹⁹⁾. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Buna

karşılık koroner arter hastalığı olan Türk popülasyonunun sağlam kontrollerle karşılaştırıldığı iki ayrı çalışmada D alelinin hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunduğu gözlenmiştir^(16,17). İşbir ve arkadaşlarının çalışmasında kontrol grubunda D alel frekansı 0.49 tespit edilmiş olup, alışımsız dışında düşük bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Akar ve arkadaşları da Ankara çevresindeki hastalarda D alel frekansını 0.73 gibi oldukça yüksek bir değerde bulmuşlardır⁽¹⁷⁾. Bu bölgedeki etnik özellikler ACE genotipinin koroner arter hastalığı gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir. Çalışmamız erken koroner arter hastalığı gelişiminde ACE genotipinin etkili olmadığını düşündürürken, konvensiyonel risk faktörlerinden sigara içimi, total kolesterol yüksekliği, HDL kolesterol düşüklüğü, LDL kolesterol yüksekliği, obezite ve diyabetin önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Pozitif aile anamnezi ve hipertansiyonun her iki grupta anlamlı farklılık göstermemesinin, kontrol grubumuzun hastaneye başvuran seçilmiş olgulardan oluşmasından kaynaklandığını, düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonuçlarına göre erken koroner arter hastalığı gelişiminde ACE gen polimorfizminin herhangi bir rolü olmadığı kanısına varmakla birlikte kesin konuşabilmek için daha fazla sayıdaki popülasyonda çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. The CONSENSUS Trial Study Group: Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. *New Engl J Med* 1987; 316: 1429-35
2. The SOLVD Investigators: Effects of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *New Engl J Med* 1991; 325: 293-302
3. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators: Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor, ramipril on cardiovascular events in high risk patients. *N Engl J Med* 2000; 342: 145-53
4. The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators: Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. *Lancet* 1993; 342: 821-8

5. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-6
6. Danser AH, Schalekamp M, Bax WA, et al: Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the Deletion/Insertion polymorphism. *Circulation* 1995; 92: 1387-8
7. Nakahara K, Matsushita S, Matsuoka H, et al: Insertion/Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene affects heart weight. *Circulation* 2000; 101: 148-56
8. Schunkert H, Hense H-W, Holmer SR, et al: Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med*. 1994; 330: 1634-8
9. 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
10. Juenemaitre X, Lifton RP, Hunt SC, et al: Absence of linkage between the angiotensin converting enzyme locus and human essential hypertension. *Nat Genet* 1992; 1: 72-5
11. Bostan C, Karcier S: Anjiyotensin dönüştürücü enzim geni polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklar. *Türk Kard Dern Arş* 2002; 7: 441-8
12. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al: Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*. 1992; 359: 641-4
13. Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW, et al: Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073-5
14. Montgomery HE, Keeling PJ, Goldman JH, Humphries SE, Talmud PJ, McKenna WJ: Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1627-31
15. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R et al: ACE gene polymorphism: Ischemic heart disease and longevity in 10150 individuals. A case-referent and retrospective cohort study based on the Copenhagen City Heart Study. *Circulation* 1997; 95: 2358-67
16. Isbir T, Yılmaz H, Agachan B, Aydın M, Isbir CS: Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and coronary artery disease. *IUBMB Life* 1999; 48: 205-7
17. Akar N, Aras O, Omurlu K, Cin S: Deletion polymorphism at the angiotensin-converting enzyme gene in Turkish patients with coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58: 491-5
18. Tokgozoglu SL, Alikasifoglu M, Atalar E, et al: Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk and extent of ischemic heart disease among Turkish patients. *Coron Artery Dis* 1997; 8: 137-41
19. Araz M, Aynacioglu S, Okan V, Akdemir I, Aktaran S: Angiotensin- converting enzyme gene and coronary artery disease in Turkish type II diabetic patients. *Acta Cardiol* 2002; 57: 265-9
20. Araz M, Yilmaz N, Gungor K, Okan V, Kepekci Y, Sukru Aynacioglu A: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 54: 95-104
21. Araz M, Aynacioglu S, Aktaran S, Alasehirli B, Okan V: Association between polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene and hypertension in Turkish type II diabetic patients. *Acta Medica* 2001; 44: 29-32
22. Bedir A, Arik N, Adam B, Kılınç K, Gümüş T, Güner E: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and activity in Turkish patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 1999; 12: 1038-43
23. Tezcan H, Tuğlular S, Çiftcioglu C ve ark: Türk hipertansif hastalarda anjiyotensin-konverting enzim gen polimorfizmi ve sol ventrikül hipertrofisi ilişkisi. *Türk Kard Dern Arş* 2002; 12: 742-8
24. Marian AJ, Yu OT, Workman R, Greve G, Roberts R: Angiotensin converting enzyme polymorphism is associated with hypertrophic cardiomyopathy as well as sudden cardiac death. *Lancet* 1993; 342: 1073-4
25. Bostan C, Karcier S, Vural B, Ünaltuna N, Bulur H, Hatemi AC: Hipertrofik kardiyomiopati erişkin Türk hastalarda anjiyotensin I dönüştürücü enzim gen polimorfizmi. XVII. Ulusal Kardiyoloji Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı 2000; 001, SB 110