

TÜRK TIP 2 DİABETİK HASTA POPULASYONUNDA ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM POLİMORFİZMİNİN DİABETİK NEFROPATİ VE DİĞER VASKÜLER KOMPLİKASYONLAR İLE İLİŞKİSİ

RELATIONSHIP BETWEEN ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME POLYMORPHISM AND DIABETIC NEPHROPATHY AND OTHER VASCULAR COMPLICATIONS IN TURKISH PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLİTUS

*Gülçin Kantarcı, **Zehra Eren, ***Aliye Yaman, ***Turgay İspir, ****Çetin Özener, ****Emel Akoğlu

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı*, Vakıf Gureba Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları **, DETAM Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı ***, DETAM Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı ***, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı ****, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı ****

ÖZET

Diabetes Mellitusla ilgili morbidite ve mortaliteden daha çok kardiovasküler hastalıklar ve diabetik nefropati sorumlu tutulmaktadır. Renin-anjitenin sisteminin genotipik anormallikleri diabetik komplikasyonların gelişmesinde risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Biz, çeşitli diabetik komplikasyonları olan insuline bağımlı olmayan diabetes mellituslu (NİDDM) hastalarda anjiotensin konvertan enzim (ACE) genindeki insersiyon (I)Delesyon (D) polimorfizmlerinin ilişkisini çalıştık.

3 yıldan daha uzun süreli NİDDM ile izlenen 159 hastayı (Ort. Yaş 58,1 ±12,1 yıl) inceledik. (Ortalama diabet süresi; 11,7±8 yıl). Kontrol grubu olarak 44 sağlıklı gönüllü (Ort.Yaş 55,3±9,9) aldık. I/D polimorfizmi PCR tekniği ile incelendi ve alleller etidium boyamasından sonra %2'lik agar jel ile gösterildi. Diabetik nefropati, hipertansiyonu, retinopatisi ve nöropatisi olan ve olmayan NİDDM'lilerde genotip dağılımında fark yoktu (P>0,05). DD genotipinin periferik arter hastalığı ile ilişkili olduğu tespit edildi (P=0,05). ID genotipi iskemik kalb hastalığı (P=0,03) ve kardiomyopati (P=0,05) ile ilişkiliydi. II/ID/DD genotipleri ve I/D atletlerinin cinsiyet açısından aralarında anlamlı fark yoktu(P>0,05). II genotipindeki hastaların serum glukoz (P=0,02) ve HbA1c (P=0,005) değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu. Ailede diabet ve diabet komplikasyonları ile hiçbir genotip korelasyonu bulunmadı (P>0,05).

Sonuç olarak; çeşitli düzeylerde diabetik nefropatisi olan NİDDM'li hastalarda ACE geninin DD/ID/II genotipleri ile ilişki yoktur (P>0,05). Sadece renal replasman tedavisindeki hastalarda diğer diabetikler ve kontrol grubuna göre daha fazla olarak D alleli tespit edildi. ACE gen polimorfizminin diabetik nefropati ile ilişkisi olmamasına rağmen DD ve ID genotipleri kardiovasküler ve periferik arter hastalığı için iyi birer genetik marker olabilir. Aday genlerin NİDDM komplikasyonları polimorfizmlerinin rollerinin anlaşılabilmesi için izlem çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Türk Tip II Diabetik hastalar ACE polimorfizmi, Diabetik nefropati, vasküler komplikasyonlar

SUMMARY

Cardiovascular disease and diabetic nephropathy account for much of the morbidity and mortality associated with diabetes mellitus. Genotypic abnormalities of the renin-angiotensin system have been suggested as a risk factor for the development of diabetic complications. We studied the relationship between an insertion(I)/deletion(D) polymorphism in angiotensin converting enzyme (ACE) gene in non-insulin dependent diabetes mellitus (NİDDM) patients with various diabetic complications.

We examined 159 patients (Mean age 58.1 ±12.1 years) with NİDDM of more than 3 years duration. (Mean duration of diabetes; 11.7±8 years). As control we took 44 healthy volunteers (Mean age 55.3±9.9 years). The I/D polymorphism was analyzed with PCR technique and alleles were visualized on %2 agarose gels after ethidium staining. Distribution of genotypes was not significantly different NİDDM patients with and without nephropathy, hypertension, retinopathy, neuropathy. The DD genotype was found to be related with peripheral arterial diseases (P=0.05). ID genotype was related with ischemic heart disease (P=0.03) and cardiomyopathy (P=0.05). No significant gender difference was found between II/ID/DD genotypes and I/D alleles. Serum glucose (P=0.02) and HbA1c (p=0.005) values were significantly high in II genotyped patients. No genotype correlation was found between diabetes and complications in relatives of the patients (P>0.05).

In conclusion there is no significant association between DD/ID/II genotypes of ACE gene in NİDDM patients with various degrees of diabetic nephropathy (P>0.05). Only patients with diabetic nephropathy who were on renal replacement therapy had D allele more than other diabetic patients and control subjects. Though there is no correlation with diabetic nephropathy ACE gene polymorphism DD and ID genotypes can be a notable genetic marker for cardiovascular and peripheral arterial disease. Follow-up studies is needed to achieve a better understanding of the role of candidate gene polymorphisms on the development of complications of NİDDM.

GİRİŞ

İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus (NTDDM), kronik seyirli, genetik kökenli, klinik tablo ve patogenez açısından heterojen özelliklere sahip bir metabolizma hastalığıdır.

Diabetik nefropati NIDDM'in en sık görülen mikrovasküler komplikasyonudur. Ülkemizde son dönem böbrek yetmezliği nedenleri içinde diabetik nefropati, 2001 registrisinde %25.3 lük bir oranla birinci sırayı almıştır (1). Daha önceki registri sonuçlarına göre son yıllarda diabetik nefropatiye bağlı son dönem böbrek yetmezliği insidansında %60' lara varan bir artış gözlenmektedir.

Son yıllarda diabetik nefropati gelişimi ve ilerlemesindeki genetik yatkınlığı ortaya çıkarmak için yapılan gen analizleri Anjiotensin Dönüştürücü Enzimin (ACE) polimorfizmini değerlendirmeye dayandırılmaktadır.

Pek çok çalışmada hipertansiyon ve renin anjiotensin sisteminin diabetiklerde renal hasarın oluşması ve ilerlemesindeki rolü kanıtlanmıştır.

Diabetik hastalarda prorenin'in arttığı ve mikroalbuminüri döneminden hemen önce ise total reninin arttığı tespit edilmiştir(2-3). Bu sistemin hücre proliferasyonu, sitokin ve büyüme faktörü salınımına olan etkileri göz önüne alındığında genetik yatkınlığı değerlendirmede bu sisteme etkili olan genlerdeki farklılıkları ve bunların klinik etkilerini incelemek en akıllı yaklaşım olmaktadır.

ACE geni 26 ekson içeren 17. kromozomun uzun kolu üzerinde 21 kb boyutundadır. Intron 16'da gösterilen polimorfizm 287 baz çifti parçasının olup olmaması ile insersiyon, delesyon şeklinde polimorfizm gösterir. Delesyon tipi polimorfizm için homozigot olan bireylerde (DD) en yüksek ACE aktivitesi tespit edilirken, insersiyon tipi polimorfizm için homozigot olan bireylerde (II) en düşük ACE aktivitesi tespit edildi.

Marre ve arkadaşları ilk defa diabetik nefropatide ACE gen polimorfizmini incelediler. I allelinin Tip I diabetik nefropati gelişmeyen bireylerde daha sık olduğunu gösterdiler(4). Bu çalışmadan sonra çeşitli etnik gruplarda NIDDM ve IDDM'li gruplarda bu bulguyu destekleyen veya desteklemeyen farklı sonuçlar bulundu.

Erişkinlerde tekrarlanan plazma ACE ölçümlerinde kişiler arası ACE seviyelerinin oldukça farklı olduğu ve bu farkın çevresel, metabolik ve hormonal faktörlerden bağımsız olduğu gözlenmiştir (5). ACE seviyesi aynı kişide tekrarlanan ölçümlerde belirgin farklılık göstermezken, kişiler arası plazma ACE düzeylerinin farklı olması da ACE düzeyinin çevresel faktörlerden etkilenmeyip genetik olarak belirlendiğini düşündürmektedir. Bu bulgulardan sonra ACE geni klonlanmış daha sonra ACE genin yapısını ve polimorfizmini araştırmak mümkün olmuştur (6).

Bu çalışmanın amacı; Türk NIDDM hasta popülasyonunda nefropati ve diğer mikro-vasküler ve makrovasküler diabet komplikasyonları ile ACE geninin farklı genotipleri arasında korelasyon olup olmadığını araştırmaktır.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Olgular

Bu çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Diabetik Nefropati Polikliniğinde ve Vakıf Gureba Hastanesi Diabet Merkezi Polikliniğinde takip edilen diabetik hastalar alınmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri:

- 1)Erişkin, Tip II diabetik hasta
- 2)Diabet yaşının en az 3 yıl olması,
- 3)Çalışmaya katılmayı kabul eden çalışma hakkında bilgilendirilmiş hastalar.

Çalışmaya alınmama kriterleri:

- 1)15 yaşın altında olan hastalar
- 2)Tip I diabetik hastalar
- 3)Sekonder nedenlere bağlı gelişen diabeti olan hastalar

Kontrol grubundaki hastalar; kendilerinde ve birinci derece akrabalarında diabet, hipertansiyon, renal yetersizlik öyküsü olmayan sağlıklı gönüllülerden oluşturulmuştur.

Diabetik hastaların klinik ve laboratuvar verileri

Tüm hastaların vücut kitle indeksleri (kg/m^2) olarak hesaplanmış, diabetin tipi sorgulama ve hasta kayıtlarından tespit edildikten sonra tüm hastaların radioimmün assay yöntemi ile C peptit düzeylerine bakılmıştır. (C peptit için normal değerler 0,8-4ng/ml olarak kabul edilmiştir).

Hastaların kan basıncı ölçümleri en az üç kez yapılmış, her hastaya göz dibi muayenesi daha önceki kontrollerinde yapılmış dahi olsa tekrarlanmıştır. Proteinürinin tespiti için öncelikle tüm hastalar dipstik ile taranmış, dipstik ile proteinüri tespit edilenler esbach ile tekrar değerlendirilmiştir. Dipstik ile proteinüri saptanmayan tüm hastalarda 24 saatlik idrarda mikroalbuminüri varlığı araştırılmıştır. Tüm hastalar ve kontrol grubundaki gönüllülerin elektrokardiografik değerlendiril-meleri tek kişi tarafından yapılmıştır. Öykü ve EKG ile yapılan kardiyak değerlendirme sırasında patoloji tespit edilen hastalardan iskemik kalb hastalığı veya kardiomyopati varlığının değerlendirilmesi açısından kardioloji konsültasyonu istenmiştir. Fizik muayenede periferik nabızları alınamayan veya zayıf alınanlar ileri tetkikler ile (Doppler, Anjiyografi) değerlendirilmiştir. Nöropati tespiti nörolojik muayene ve öykü ile yapılmıştır.

Tüm hastalardan bir kez açlık kan şekeri, kan üre azotu, kreatinin, kreatinin klerensi, serum total

kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, VLDL , glikozile-
hemoglobulin (HbA1c), C peptit düzeyi bakılmıştır.

DNA ayırımı ve ACE I/D gen polimorfizminin
tespiti:

Tüm hastalar ve kontrol grubundaki gönüllülerden
kan IOcc'lik EDTA' lı steril tüplere alınıp 24 saat
içinde DNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

DNA ekstraksiyonu; PCR-SSP (Sequence
Spesific Primer, diziyeye özgü primer) tekniği
kullanılarak periferik kan lökositlerinden yapılmıştır.
Tüm DNA'larm saflığı spektrofotometrik olarak
kontrol edilmiştir.

Daha sonra diziyeye özgü primerler kullanılarak
PCR amplifikasyonu yapılmıştır. Amplifikasyon
ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde tespit etme
boyamından sonra ayrılmış ve ethidium bromide
boyaması ile DNA görünür kılınmıştır. İşlem sonunda
transluminatör ile ultraviyole altında jel incelenerek
yapılan yorumlama ile toplam 2 saat 30 dakika
içerisinde 3 çeşit genotip görüntülenmektedir (7,8).

- 490 baz çifti içeren PCR ürünü, DD genotipi
(delesyon/delesyon)
- 190 baz çifti içeren PCR ürünü, II genotipi
(insersiyon/insersiyon)
- 490 baz çifti ve 190 baz çiftini birlikte
içeren PCR ürünü, İD genotipi (insersiyon/
delesyon) olarak değerlendirilmiştir.

İSTATİKSEL ANALİZ

İstatiksel analizde Arcus QuickStat (Biomedical)
programı kullanılmıştır. Kalitatif veriler için Ki kare,
kantitatif veriler için ise eşlendirilmiş ve
eşlendirilmemiş student- t testi kullanılmıştır. P<0,05
olan veriler istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 159 Tip II diabetik hasta ile 44 sağlıklı
gönüllü alınmıştır. Diabetik hastaların yaş ortalaması
58,1±12,1 yıl olarak bulundu. Hastaların %55,9'u
kadın (n=89), %44,1'i erkek (n=70) olarak saptandı.

Kontrol grubu (G0) olarak alınan sağlıklı
gönüllülerin yaş ortalaması 55,3±9,9 yıl idi..

Gönüllülerin %43,2'si kadın (n=19), %56,8'i erkek
(n=25) idi.

Gruplar arasında yaş açısından ve cinsiyet
açısından istatiksel açıdan anlamlı fark yoktu.(p>0,05)

Diabetik hasta grubu da kendi arasında diabetik
nefropati açısından 4 gruba ayrıldı. Bu grupların
özellikleri tablo 1 de bildirilmiştir:

Gruplar arasında kontrol grubu ve kendi
aralarında karşılaştırıldığında yaş açısından istatiksel
olarak anlamlı fark yoktu.(p>0,05)

Tüm hastaların diabet yaşı 11,7±8 yıl olarak tespit
edildi, diabet tanısı konduktan sonra geçen süreleri ise
3 ila 35 yıl arasında değişmekteydi.

Kontrol (GO) ve diabetik hasta gruplarında
yapılan ACE geninin polimorfizm genotipik
değerlendirilmesinin sonuçları tablo 2'de
verilmektedir.

Allel sıklığı açısından kontrol grubu ile tüm
gruplar ayrı ayrı karşılaştırıldığında RRT'deki diabetik
hasta grubunda D allelinin kontrol grubuna göre
istatiksel olarak anlamlı (p=0.02) şekilde fazla olduğu
tespit edildi (tablo 3).

Tüm gruplarda cinsine göre genotip dağılımı
açısından yapılan değerlendirmede de kadınlarla
erkekler arasında genotip dağılımı açısından fark
olmadığı (p>0.05) tespit edildi. Bu bulgular tablo 4'de
gösterilmiştir.

Cinsine göre allel sıklığı bakımından yapılan
değerlendirmede de D ve I allellerinin cinsiyete göre
dağılımlarında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı
(p>0.05).

Tüm diabetik hastaların diabetin tanı yaşı ve
diabetik komplikasyonların gelişiminin genotipik
farklılıklar açısından değerlendirilmesi tablo 5'da
yapılmıştır.

Hastaların ACE genindeki farklı polimorfizmlerin
diabetin erken veya ileri yaşlarda başlaması üzerine
etkisi olup olmadığı düşüncesiyle diabetin tanı yaşıyla
polimorfizm arasındaki ilişki değerlendirildiğinde
farklı polimorfizmlerde diabet tanı yaşının değişmediği
tespit edildi, (p>0,05) Ancak back-ground
retinopatilerde II genotipine daha çok
rastlanmaktaydı, (p=0,01) Bu ilişki proliferatif
retinopati ile yoktu, (p>0,05)

Tablo 1: Hastaların diabetik nefropati açısından gruplandırılması.

	Hasta grubu	Hasta sayısı(n)	Yaş ortalaması(yıl)
Grup I (G1)	Non-proteinürik	37	54,5±10
GrupII (G2)	Mikroalbuminürik	41	57,9±11
Grup III (G3)	Aşık proteinürik	46	59,3±14
Grup IV (G4)	RRT deki hastalar	35	60,4±12,1

RRT: Renal replasman tedavisi

Tablo 2: Kontrol grubu ile hasta grupları arasında genotip dağılımı

	Genotipler*	Genotipler*	Genotipler*
Gruplar	DD	İD	II
G0 n(%)	25 (57)	17(39)	2(4)
G1 n(%)	16(43)	17(46)	4(11)
G2 n(%)	15(37)	20(48)	6(15)
G3 n(%)	14(30)	28(61)	4(9)
G4 n(%)	19(54)	16(46)	0(0)

Tablo 3: Kontrol grubu ile hasta grupları arasında allel dağılımı

Cinsiyet	DD	İD	II
Kadın n(%)	31 (39)	48 (54)	10(11)
Erkek n(%)	33 (47)	33 (47)	4(6)

Tablo 4: Cinsiyete göre genotip dağılımı

Cinsiyet	DD	İD	II
Kadın n(%)	31(39)	48 (54)	10(11)
Erkek n(%)	33 (47)	33 (47)	4(6)

Tablo 5: Diabetin tanı yaşı ve komplikasyonların ACE geninin polimorfizmi ile ilişkisi.

Tanı yaşı ve komplikasyonlar	DD	İD	II	P değeri
Diabetin tanı yaşı(yıl)	46±12	46,4±13	49,4±10	NS
Hipertansiyon n(%)	41 (40)	52 (50)	10(10)	NS
BGR n(%)	5(25)	10(50)	5(25)	0.01
PR n(%)	29 (36)	30 (63)	3(11)	NS
IKH n(%)	25(31)	45 (56)	10(12)	0,03
KMP n(%)	8(31)	18(69)	0	0,05
Nöropati n(%)	27 (44)	29 (48)	5(8)	NS
PAH n(%)	19(58)	11(33)	3(9)	0,05

İskemik kalb hastalığı ve kardiomyopati ile de İD genotipinin ilişkili olduğu tespit edildi (p= 0,03 ve 0,05).

Nöropati ile gruplar arası genotip açısından fark tespit edilmezken, periferik arter hastalığı olanlarda DD genotipinin daha sık görüldüğü (p=0,05) tespit edildi.

Hastaların genotip varyasyonlarına göre yapılan laboratuvar bulguları açısından yapılan korelasyonlar **tablo 6**'de verilmiştir. II genotipindeki hastalarda daha yüksek serum glukoz değerleri bulunurken (p=0,02) HbA1c düzeylerinin de II olan hastalarda daha yüksek bulunması (p=0,005) dikkat çekiciydi.

TARTIŞMA

Diabetes Mellitus'ta en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinin başında diabetik nefropati gelmektedir. Tip I ve Tip II diabetiklerde diabetik nefropati ve diabetin diğer komplikasyonlarının gelişmesinde genetik yatkınlığın önemli rolü olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (9-13).

Diabetiklerde komplikasyonların gelişmesinden sorumlu tutulabilecek gen veya genlerin tespit edilmesi belki de hastalarda daha diabet tanısı konduğu andan itibaren optimal tedavinin uygulanması komplikasyonlar en aza indirilebilir.

Pek çok çalışmada hem Tip I hem de Tip II'de hipertansiyonun ve renin anjiyotensin sisteminin renal hasarın oluşması ve ilerlemesindeki rolü 1980'lerden beri yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir.(3, 14-17).

Anjiyotensin II renal proksimal tubul hücrelerine direkt etkisiyle sıvı retansiyonuna neden olurken, indirekt etkiyle zona glomerulözada aldosteron sentezini uyarır. Bu nedenle kardiyak ve renal hastalıkların patogeneğinde hücrel hipertrofi ve proliferasyonu uyarması nedeniyle sorumlu tutulmaktadır. Renin anjiyotensin sisteminin hücre proliferasyonu, sitokin ve büyüme faktörü salınımına olan etkileri göz önüne alınarak ACE geninin polimorfizminin diabetiklerde komplikasyonların gelişmesinde sorumlu gen olabileceği düşünülerek farklı hasta gruplarında ve farklı etnik gruplarda çalışılmaktadır. (18-27)

Bu çalışma Türk diabetik hasta popülasyonunda ACE gen polimorfizmi ile klinik farklılığın sadece diabetik nefropati ile değil diğer diabetik komplikasyonlar ile ilişkisinin araştırıldığı geniş ölçekli bir çalışmadır.

Kontrol grubundaki sağlıklı gönüllülerde DD sıklığı %57, İD sıklığı %39, II sıklığı %4 bulundu. Allel frekansı D alleli için %76, I alleli için %24 olarak tespit edildi.

Akar ve ark.'ı 218 koroner arter hastalığı olan kişide DD sıklığını %73 olarak tespit ettiler, sağlıklı kontrollerinde ise bu oran % 61 olarak bulundu (28).

Non-proteinürik, mikroalbuminürik, aşikar proteinürik ve renal replasman tedavisindeki diabetik hastalar ve sağlıklı gönüllülerde yapılan bu çalışmada ise ACE geninin polimorfizminin gruplar arasında değişmediği en az rastlanan genotipin II genotipi olduğu tespit edildi.

Avrupa kökenli beyaz ırkta yapılan pek çok çalışmada DD/ID/II genotip oranları 1/2/1 olarak verilmekte iken, Türk toplumunda bu oranın II genotipinde belirgin azalma ve DD genotipinde belirgin artma ile seyrettiği söylenebilir. Bu bulgu diabetik nefropati ile ilişkili görülmesi de Türk toplumunda aterosklerotik hastalık sıklığının Avrupalılar ve Japonlarla karşılaştırıldığında yüksek olmasının nedeni olabilir.

İlk defa 1990'da Rigat tarafından ACE gen polimorfizminin tespit edilip bunun biyokimyasal ve klinik etkilerinin yayınlanmasından sonra pek çok araştırmacı tarafından bu genin etkileri araştırılmıştır (29-31).

Staessen yaptığı meta-analizde DD genotipi ile hastalıklara yatkınlık arasında şöyle bir ilişkiyi saptamıştır: Koroner arter hastalığı için 1,3 , miyokard infarktüsü için 1, 4, diabetik ve nondiabetik renal hastalıklar için 1,5 olarak odds oranları elde edilmiştir (32).

Bu çalışmada da diabetik nefropati açısından gruplandırılarak yapılan ACE genin bakımından genotip ve allel sıklığı değerlendirmesinde renal replasman tedavisindeki grupta D allelinde artış dışında istatistiksel açıdan anlamlı değişiklik olan grup tespit edilmedi.

Literatürde Tip II diabetiklerde diabetik nefropati ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişki ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. DD genotipi ve/veya D allelinin diabetik nefropati gelişenlerde daha sık tespit edildiği çalışmalar olduğu gibi (32-35) diabetik nefropati gelişimi ile ACE geninin polimorfizmlerinden hiç biri arasında ilişki olmadığını savunan çalışmalarda vardır (27,36-39).

Diabetin kardiyovasküler komplikasyonları açısından yaptığımız değerlendirmede iskemik kalb hastalığı ve iskemik dilate kardiomyopati gelişen hastalarda İD genotipinin daha sık görüldüğünü tespit ettik. Cambien tarafından da non-diabetik popülasyonda D allelinin miyokard infarktüsü insidansı ile ilişkisi rapor edildi(40). Bazı yazarlar ACE gen polimorfizminin sol ventrikül hipertrofi ile ilişkisi olduğunu yazarken bazı yazarlarda ilişki tespit etmediklerini bildirdiler(41,42-43). Ancak diabetiklerde yapılan çalışmalarda DD, ID genotipi ve D alleli ile iskemik ve idiopatik dilate kardiopati, sol ventrikül hipertrofisi ve ani ölüm arasında korelasyon

diabetikte ultrasonografik olarak ölçülen karotis duvar kalınlığı ile D allel sıklığı arasında bağımsız bir ilişki olduğu bildirildi(36). Bu çalışmada da periferik arter hastalığı klinik ve /veya doppler USG gereğinde anjiyografik olarak gösterilmiş olan hastalarda DD genotipinin daha sık olduğu tespit edildi.

ACE gen polimorfizminde D allel taşıyıcılığının diabetiklerde periferik arter hastalığı ve iskemik kalb hastalığı için iyi bir genetik yatkınlık belirteci olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da DD genotipinin periferik arter hastalığı olan diabetiklerde daha sık görüldüğü tespit edildi.

Diabetik retinopatinin diabetik nefropati ile patogenetik ve klinik yakın ilişkisine rağmen şimdiye kadar yapılan çalışmalarda nefropati ile ACE gen polimorfizminin DD genotipi ile ilişki kuran çalışmalar olduğu halde retinopati ile farklı genotipler arasında ilişki kurulan çalışma yoktur. Daha önce diabetik retinopatisi olanlarda ACE gen polimorfizmi çalışmalarında gerek genotipik farklılık, gerekse allel sıklığı arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gösteren pek çok çalışma vardır. (26,27,44,45)Bu çalışmada da proliferatif retinopati ile ACE gen polimorfizmi arasında ilişki yokken, back-ground retinopatisi olanlarda II genotipi daha sık tespit edilmiştir. Back-ground retinopati tespit edilen grubun sayısı olarak az olması bu bulgunun yeterince spesifik olmadığını düşündürmektedir.

II genotipinde olanlarda serum glukoz düzeylerinin daha yüksek olması ve HbA1c düzeylerinin bu grupta daha yüksek olarak tespit edilmesi de dikkat çekici bir bulgudur. Tip II diabetiklerde kan şekeri regülasyonunu etkileyen en önemli etken periferik insulin resistansıdır. Kan şekeri regülasyonunu etkileyen diğer pek çok etken de (enfeksiyon, malinite gibi) periferde insüline direnç gelişmesine neden olarak kontrolsüz hiperglisemilere neden olur. 1997'de Chiu ve ark. I alleleline sahip olanlarda kan şekeri regülasyonunun daha zor olduğunun tespit edilmesi üzerine, öglisemik klemp tekniği ile 24 hastada I allelinin insülin resistansı ile ilişkili olduğunu gösterdiler (46). Yine 103 Tip II diabetik ve 533 non-diabetikte yapılan bir cohort çalışmasında DD genotipindeki hastaların II genotipine sahip olanlara göre insüline daha sensitif oldukları gösterilmiştir (47). Başka bir deyişle Anjiotensin II düzeyi yüksek olanlar insüline daha hassastır. Anjiotensin II infüzyonu yapılan diabetik ve non-diabetiklerde insülin sensitivitesinin arttığı gösterilmiştir (48,49).

Daha önceki çalışmalarda ve bu çalışmada tespit edilen D allel varlığının ve DD genotipinin kardiyovasküler morbidite ve bazı çalışmalarda tespit edilen ani ölüm ile ilişkisinin genetik yatkınlık açısından insülin resistansı ile ilişkisini olmadığı bundan sorumlu başka mekanizmaların olabileceği düşünülebilir. Bu

mekanizmaların tespiti için insülin resistansı olan diabetikler ile kardiyovasküler hastalığı olan bireylerde geniş vaka serileri ile ACE gen polimorfizmi çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) Türk Nefroloji Derneği Registry 2001.Türk Nefroloji Derneği Yayınları.
- 2) Erdös E. Skidgel R.A, The angiotensin I-converting enzyme. Lab invest 1987;56:345-348
- 3) Luetscher JA, Kraemer FB, Wilson DM, Schwartz HC, Bryerash M. Increased plasma inactive renin in diabetes mellitus: A marker of microvascular complications. N Engl J Med 1985;312:1412-1417
- 4) Schmidt S, Schöne N, Ritz E and the Diabetic Nephropathy Study Group. Association of ACE gene polymorphism and diabetic nephropathy?: Kidney Int 1997;47:1176-1181
- 5) Egido J. Vasoactive hormones and renal sclerosis. (Perspectives in Clinical Nephrology): Kidney Int 1996; 49: 578-597
- 6) Alhenc-Gelas F, Richard J, Courbon D, Warnet JM, Corvol P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: Relationship to environmental and hormonal parameters. J Lab Clin Med 1991;117:33-39
- 7) Graham DE. The isolation of high molecular weight DNA from whole organisms or large tissue masses. Annal Biochem 1978;85:609-613
- 8) Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucl Acids Res. 1988;16:1215
- 9) Ballard DJ, Humphrey LL, Melton LJ et al. Epidemiology of persistent proteinuria in type II diabetes mellitus. Diabetes 1988;37:405-412
- 10) Sawicki PT, Kaiser S, Ehle B, Frenzel H, Berger M. Post mortem Untersuchung zur Häufigkeit von Nierenarterienstenosen bei Patienten mit Diabetes Mellitus. Akt Endokrinologie Stoffe 1989;10.i25a
- 11) Deferrari G, Cheli V, Robaudo C. Treatment of diabetic nephropathy in its early stages. Diabetes Metab Rev 1997;13:51-61
- 12) Freedman BI, Tuttle AB, Spray BJ. Familial predisposition to nephropathy in African-Americans with non-insulin dependent diabetes mellitus. Am J Kidney Dis 1995;25:710-713
- 13) Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. N Engl J Med 1989;320:1161-1165
- 14) Allen TJ, Cooper ME, Gilbert RE, Winikoff J, Skinner SL, Jerums G: Serum total renin is increased before microalbuminuria in diabetes. Kidney Int 1996;50:902-907
- 15) Hallab M, Bled F, Ebran JM, Suraniti S, Girault A, Fressinaud PH, Marre M. Elevated serum angiotensin converting enzyme activity in type I, insulin-dependent diabetic subjects with persistent microalbuminuria. ActaDiabetol 1992;29:82-85
- 16) Schmidt S, Ritz E. Genetics of the renin-angiotensin system and renal disease: A progress report. (Review) Curr Opin Nephrol Hypertens 1997;6:146-151

- 17) Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension. *J Clin Invest* 1986;77:1993-2000
- 18) Nakai K, Itoh C, Miura Y. Deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in Japanese population. *Circulation* 1995;91:2199-2202
- 19) Reynolds MV, Bristow MR, Bush EW et al. ACE DD genotype in patients with ischemic or idiopathic dilated cardiopathy. *Lancet* 1993;342:1073-1075
- 20) Schunkert H, Hense HW, Holmer SR et al. Association between a deletion polymorphism of ACE gene and left ventricular hypertrophy. *NEJM* 1994; 1634-1638
- 21) Naoharu I, Nobuyuki O et al. DD genotype of the ACE gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994;90:20622-20628
- 22) Peticone F, Cervolo R, Cosco C et al. Deletion polymorphism of ACE gene and left ventricular hypertrophy in Southern Italian patients. *JACC* 1997; 29:365-369
- 23) Ohishi M, Fujii K. A potent risk factor for restenosis. *Nature Gen* 1993;5:324-325
- 24) Freire M, Dijk D, Erman A, Boner G, Warram J, Krolewski A. DNA polymorphism in the ACE gene, serum ACE activity and risk of nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2553-2558
- 25) Mizuiri S, Yoshikawa H, Tanegashiwa, Miyagi M et al. Renal ACE Immunohisto- chemical localization in NIDDM patients with nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1998;31:301-307
- 26) Schmidt S, Schöne N, Ritz E and the Diabetic Nephropathy Study Group. Association of ACE gene polymorphism and diabetic nephropathy? *Kidney Int* 1997;47:1176-1181
- 27) Marre M, Bernadet P, Gallois Y, Savagner F et al. Relationship between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 1994;43:384-388
- 28) Akar N, Araş 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(6):491-495
- 29) 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;86:1343-1346
- 30) Tiret L, Rigat B, Visvikis S, et al. Evidence from combined segregation and linkage analysis that a variant of the angiotensin I converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE. *Am J Hum Genet* 1992;51:197-205
- 31) Chiu KC, Me Carthy JE; The insertion allele at the angiotensin I-converting enzyme gene locus is associated with insulin resistance. *Metabolism: Clinical and Experimental* 1997;46(4):395-399
- 32) Staessen JA, Wong JG, Ginocchio G, Petrov V, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R, Fogard R. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertension* 1997; 15(12Pt2): 1579-1592
- 33) Doria A, Warram JH, Krolewski AS. Genetic predisposition to diabetic nephropathy. Evidence for a role of the angiotensin I-converting enzyme gene. *Diabetes* 1994;43:690-695
- 34) Morris AD, Petrie JR, Ueda S, et al. Pressor and subpressor doses of angiotensin II increase insulin sensitivity in NIDDM. Dissociation of metabolic and blood pressure effects. *Diabetes* 1994;43(12): 1445-1449
- 35) Azar ST, Zalloua PA, Medlej R, Halabi G. The genotype of the ACE gene polymorphism is associated with diabetic nephropathy in type-1 diabetics. *Endocr Res* 2001;27(1-2):99-108
- 36) Hosoi M, Nishizawa Y, Kogawa K, Kawagishi T, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism is associated with carotid arterial wall thickness in non-insulin dependent diabetic patients. *Circulation* 1996; 94(4):704-707
- 37) Ohno T, Kawazu S, Tomono S. Association analysis of the polymorphism of angiotensin-converting enzyme and Japanese non-insulin dependent diabetics. *Metabolism: Clinical and Experimental* 1996;45(2): 218-222
- 38) Jeffers BW, Estacio RO, Reynolds MV, Schrier RW. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus and its relationship with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1997;52(2):473-477
- 39) Nakajima S, Baba T, Yajima Y. Is ACE gene polymorphism a useful marker for diabetic albuminuria in Japanese NIDDM patients? *Diabetes Care* 1996; 19 (12):1420-1422
- 40) Cambien F, Poirrier O, Lecerf, et al. Deletion polymorphism in the gene for ACE is potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644
- 41) Schunkert H, Hense HW, Holmer SR et al. Association between a deletion polymorphism of ACE gene and left ventricular hypertrophy. *NEJM* 1994; 1634-1638
- 42) Yıldız A, Akkaya V, Hatemi et al, No association between deletion-type angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and left-ventricular hypertrophy in hemodialysis patients. *Nephron*. 2000;84(2): 130-5.
- 43) Beohar N, Damaraju S, Prather A, et al. Angiotensin I-converting enzyme genotype DD is a risk factor for coronary artery disease. *J Invest Med*. 1995;43(3):275-280
- 44) Doi Y, Yoshizumi H, Yoshinari M et al, Association between a polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene and microvascular complications in Japanese patients with NIDDM: *Diabetologia* 1996;39 (1):97-102
- 45) Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y et al, Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. *Diabetologia* 1998;41(1):47-53

- 46) Chiu KC, Me Carthy JE: The insertion allele at the angiotension I-converting enzyme gene locus is associated with insulin resistance. *Metabolism: Clinical and Experimental* 1997; 46(4): 395-399
- 47) Panahloo A, Andres C, Mohamed-Ali V et al, The insertion allele of the ACE gene I/D polymorphism. A candidate gene for insulin resistance? *Circulation* 1995; 92(12): 3390-3393
- 48) Buchanan TA, Thawani H, Kades W et al, Modrall JG; W. Angiotensin II increases glucose utization during acute hyperinsulinemia via a hemodynamic mechanism. *Journal of Clinical Invest* 1993; 92(2): 720-726
- 49) Morris AD, Petrie JR, Ueda S et al, Subpressor doses of angiotensin II increase insulin sensitivity in NIDDM. Dissociation of metabolic and blood pressure effects. *Diabetes* 1994; 43(12): 1445-1449