

Erkek İnfertilitesinde Anjiotensin Konverting Enzim Polimorfizmleri

Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphisms In Male Infertility

Doç.Dr. Sacide PEHLİVAN¹, Yrd.Doç.Dr. Hüseyin ONAY², Prof.Dr. Erol TAVMERGEN³
Prof.Dr. N. Tavmergen GÖKER³, Doç.Dr. Özgür ÇOĞULU², Prof.Dr. Ferda ÖZKINAY²

¹Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD

³Ege Üniversitesi Aile Planlaması Kısırlık Araştırma ve Uygulama Merkezi

Özet

Toplumumuzda Azospermi ve Oligospermi tanılı erkeklerde Anjiotensin Konverting Enzim (ACE) Polimorfizmlerinin oranını belirlemek ve son beş yıl içerisinde çocuk sahibi olan erkek bireylerle karşılaştırarak bir ilişkinin olup olmadığını göstermek amaçlandı. Çalışmaya; 71 azospermi, 31 oligospermi hastası ile son beş yıl içerisinde çocuk sahibi olan 30 erkek birey olmak üzere toplam 132 kişi alındı ve bu bireylerde ACE Ekleme (İnseriyon-I) / Çıkarma (Delesyon-D) polimorfizmleri analiz edildi. Azospermi, oligospermi ve kontroller bu polimorfizmler, genotip ve allel frekansları açısından karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ve Hardy-Weinberg eşitsizliğinden bir sapmanın bulunmadığı gösterildi. DD polimorfizm oranı, normal ve azospermi erkeklerle göre oligospermi tanısı konan bireylerde düşük (%27.5, p<0.05) bulunmuş ama istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamış, çalışma grubunun genişletilerek tekrarlanması durumunda anlamlı bir ilişki saptanabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, ACE, Polimorfizm, DNA, PCR.

Abstract

The aim of this study was to investigate the frequency of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) polymorphism in patients with oligospermia or azoospermia and to compare the frequency of polymorphism with the control group which included the men who had a child within 5 years. ACE insertion (I) / deletion (D) polymorphism was investigated at 132 men; 71 of them were diagnosed as azoospermia, 31 of them were diagnosed were oligospermia and 30 of them were healthy control. Analysis revealed that azoospermic, oligospermic and controls in terms of polymorphisms, genotype and allele frequencies, the differences were not significant and were no deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium. The DD polymorphism ratio was found to be low (27.5%, p<0.05) in the individuals diagnosed with oligospermia in comparison to normal and azoospermic males; however, this difference was not statistically significant and it was attributed to sampling size could have provided significant relationship.

Key Words: Infertility, ACE, Polymorphism, DNA, PCR.

Gaziantep Tıp Dergisi 2008, 14:15-17.

GİRİŞ

İnfertilite, çiftlerin yaklaşık %8-10' unda gözlenen bir problemdir ve %50 oranında erkek infertilitesi olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Genetik, hormonal, yapısal anormallikler erkek infertilitesinin bilinen nedenleri arasındadır. Fakat olguların önemli bir bölümünde etiyoloji aydınlatılamamaktadır.

Angiotensin converting enzyme (ACE) akciğerlerde, endotelial hücrelerde ve plazmada bulunan bir glikoproteindir. ACE, anjiotensin I' i aktif form olan anjiotensin II' ye çevirir.

Böylece ACE geni potent bir vazopresor olan anjiotensin II' yi oluşturur. Ayrıca bradikinin (vazodilatör) inaktif eder. Anjiotensin II renin-anjiotensin sisteminin (RAS) önemli bir parçasıdır ve sıvı-elektrolit dengesi ile sistemik basıncın düzenlenmesinde görevlidir (2).

Anjiotensin-II ve bradikinin düz kas hücre proliferasyonunda ve vasküler tonusun düzenlenmesinde zıt yönde çalışırlar ve burada anjiotensin II' nin etkisi daha baskındır. Bu etki başta kalp olmak üzere, kan damarları, karaciğer, böbrek ve surrenallerde kendini gösterir (3).

ACE(I/D) polimorfizmi ACE geninin 16. intronunda, 287 baz çiftlik dizinin ekleme/çıkarması ile ilgili bir polimorfizmdir. DD genotipinde olanlarda serum konsantrasyonu II genotipinin iki katıdır. ID olanlarda enzim seviyesi ara düzeydedir (4). Bu çalışmada toplumumuzda azospermi ve oligospermi tanılı erkeklerde ACE polimorfizmlerinin oranını belirlemek ve son beş yıl içerisinde çocuk sahibi olan erkek bireylerle karşılaştırarak bir ilişkinin olup olmadığını göstermek amaçlandı.

✉ Yazışma Adresi:
Doç. Dr. Sacide PEHLİVAN
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD
Adres: Gaziantep Üniversitesi Şehitkamil / Gaziantep
Tel:0342 360 60 28
Fax: 0342 360 60 28
E-mail:psacide@hotmail.com
E-mail:spehlivan@gantep.edu.tr

GEREÇ VE YÖNTEM

Olgulardan onam formu alındıktan sonra EDTA'lı tüplere alınan venöz kandan tuzla çöktürme yöntemine göre DNA izolasyonları yapıldı. ACE geni 16. intronunda yer alan Alu (287 baz çifti) bölgesindeki insersiyon (I-ekleme) / delesyon (D-çıkarma) polimorfizminin araştırılması için, ilgili bölgeye özgün primerler yardımıyla PCR yapıldı (1). Amplifiye edilen örnekler %2 Agaroz jel elektroforezinde yürütülerek (90 volt/3.5 saat) polimorfizmler, ethidyum bromür boyama yardımıyla UV ışık altında analiz edildi. Elde edilen genotip dağılımı ve allel sıklıkları Chi-Square testi ile analiz edildi. "Hardy-Weinberg" dengesi (HWE) De-Finetti programı kullanılarak hesaplandı (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>).

BULGULAR

Azospermi, oligospermi ve kontrol grubundaki ACE geni genotip ve allel dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu polimorfizmler, genotip ve allel frekansları açısından karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ve Hardy-Weinberg eşitsizliğinden bir sapmanın bulunmadığı gösterilmiştir.

ACE polimorfizmleri incelendiğinde; ACE enzim konsantrasyonlarında yükselmenin görüldüğü DD polimorfizm oranı, normal ve azospermili erkeklere göre oligospermi tanısı konan bireylerde düşük (%27.5, $p<0.05$) bulunmuştur (Şekil 1).

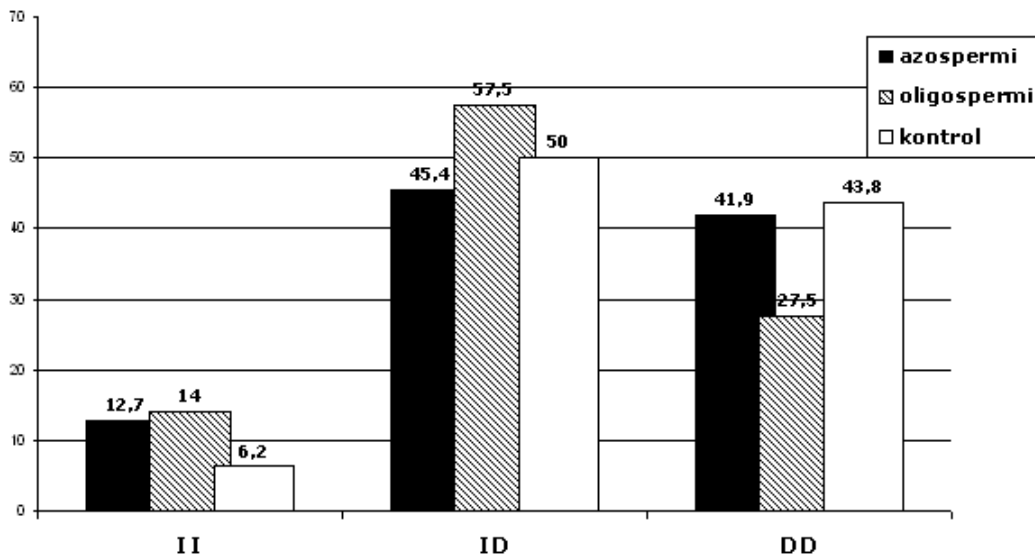
Tablo 1. Azospermi, oligospermi ve kontrol olgularında ACE I/D polimorfizmi sıklıklarının dağılımı.

ACE	Kontrol N:30	Azospermi N:71	Oligospermi N:31
II	2	9	4
ID	15	32	18
DD	13	30	9
Toplam	30	71	31
I	19	50	26
D	41	92	36
Toplam	60	142	62

TARTIŞMA

Genetik, hormonal, yapısal anormallikler erkek infertilitesinin bilinen nedenleri arasındadır. Olguların önemli bir bölümünde etiyoloji aydınlatılamamaktadır. Bu nedenle erkek infertilitesi ile ilgili olarak birçok genetik çalışma yapılmaktadır. Biz de daha önceki çalışmamızda hasta grubumuzda Y kromozom mikrodelesyonları ile erkek infertilitesi arasındaki ilişkiyi incelemiştik (5). Bunun yanında kistik fibrozis hastalığının erkek infertilitesi ile olan ilişkisi de yoğun olarak araştırılmıştır (6).

ACE Polimorfizmi



Şekil 1. Azospermi, oligospermi ve kontrol olgularında ACE II/ID/DD genotipleri yüzdelerinin dağılımı.

ACE enziminin ciddi vazokonstrüktör etkisi bilinmektedir. Bu etkinin erkek infertilitesi ile olan ilişkisinin araştırıldığı çok fazla çalışma bulunmamaktadır. ACE geni I/D polimorfizmi ile erkek infertilitesi arasındaki ilişkiyi araştıran literatürde sadece bir yayına rastlanmıştır (7). Bu çalışmada 9 azospermili, 21 ciddi derece oligoastenospermili, 16 orta derece oligoastenospermili olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Sonuçta D allel sıklığının hasta grubunda yüksek olduğu saptanmıştır fakat aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda DD genotipi bu yayından farklı olarak düşük oranda saptanmıştır. Ayrıca daha önce Y mikrodelesyonlarını çalıştığımız azospermik bireylerden; Y kromozom mikrodelesyonu görülen 1 bireyde D/D, 3 bireyde de I/D polimorfizmi belirlenmiştir. Bu polimorfizm (I/D) azospermi, oligospermi ve kontrol grubunda yüksek oranda (%45.4, %57.5, %50) saptanmıştır (7).

Literatürde ACE enzim konsantrasyonlarında yükselmenin görüldüğü D/D polimorfizm oranının oligospermilerde düşük olması (%27.5) ilginçtir (10). Farklı genlerdeki mutasyonlar (ör; CFTR, TNF gibi) yada polimorfizm çalışmalarına devam ederek erkek infertilitesinin etiyolojisini araştırmada önemlidir. Ayrıca sağlıklı genetik danışma verilmesi ve risk oluşturabilecek koşulların en aza indirilmesi açısından hem klinisyenlere hem de bu konuda çalışan merkezlere büyük yarar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Liao WX, Roy AC. Lack of association between polymorphisms in the testis-specific angiotensin converting enzyme gene and male infertility in an Asian population. *Mol Hum Reprod.* 2002;8:299-303.
2. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell.* 1992;71:169-180.
3. Baudin B. New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:256-265.
4. 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.
5. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:1215.
6. Soltangharraee H, Memariani T, Aarabi M, Hanyoushzaadeh S, Arefi S, et al. Association of ACE, PAI-1 and coagulation factor XIII gene polymorphisms with recurrent spontan abortion in Iranian patients. *Med J Reproduction Infertility.* 2007;7:13-18.
7. Okutman-Emonts O, Pehlivan S, Tavmergen E, Tavmergen-Goker EN, Ozkinay F. Screening of Y chromosome microdeletion which contains AZF regions in 71 Turkish azospermic men. *Genet Couns.* 2004;15:199-205.
8. Sakamoto H, Yajima T, Suzuki K. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutation associated with a congenital bilateral absence of vas deferens. *Int J Urol.* 2008;15:270-271.
9. Kucera M, Crha I, Vask• A, Ventruba P, Znojil V. Polymorphism of angiotensin converting enzyme (ACE) and TNF-beta genes in men with disorders of spermatogenesis-pilot study. *Ceska Gynecol.* 2001;66:313-317.
10. Küçükabacı B, Birdane A, Güneş HV, Ata N, Değirmenci I, et al. Association between angiotensin converting enzyme (ACE) gene I/D polymorphism frequency and plasma ACE concentration in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2008;8:65-66.