

Original Article / Orijinal Araştırma**Migrende Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) Geni İnsersiyon/Delesyon (I/D) Polimorfizminin Analizi****Analysis Of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene Insertion/Deletion (I/D) Polymorphism In Migraine**Saime Sezer¹, Jülide Altınışik², Nihan Bozkurt¹, Songül Akkanet¹, Ömer Ateş¹¹Gaziosmanpaşa
Üniversitesi Tıp
Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı²Balıkesir Üniversitesi
Tıp Fakültesi Tıbbi
Biyoloji Anabilim DalıCorresponding Author:
Saime SezerGaziosmanpaşa
Üniversitesi Tıp
Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı TOKATEmail:
saime_sezer@mynet.com

Başvuru Tarihi/Received :

27-06-2012

Kabul Tarihi/Accepted:

23-07-2012

ÖZET

Migren toplumun yaklaşık % 12'sini etkileyen nörovasküler bir hastalık olup, kadınlarda görülme sıklığı erkeklerden fazladır. Bazı çalışmalarda migrenin genetik bileşenlere sahip olabileceği bildirilmiştir. Renin anjiyotensin sistemin önemli bir parçası olan anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE) vasküler endotel hücrelerde ifade edilmektedir. Güçlü vazokonstriktör ve genişletici özelliğiyle de kan basıncını düzenlemektedir. Tüm bu özellikler, ACE'yi migren patofizyolojisine uygun aday bir gen yapar. Bu çalışma da ACE geni ve migren patofizyolojisi arasındaki olası ilişkinin saptanması amaçlanmıştır.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) insersiyon/delesyon (I/D) gen polimorfizmi 200 migren hastası ve 199 sağlıklı kontrol grubunda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemini kullanarak analiz edildi.

ACE geni I/D polimorfizmi için II, ID ve DD genotip frekansları bakımından hasta ve kontrol grup arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (p=0.322). I ve D allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grup arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. (p=0.474).

Sonuçlarımız, ACE I/D polimorfizminin, migren için bir risk faktörü olmadığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: ACE, Genetik yatkınlık, Migren, Polimorfizm**ABSTRACT**

Migraine is a neurovascular disorder with a prevalence of around 12%, the women being more frequently affected than men. Some studies have shown that migraine may have a major genetic component. Angiotensin-converting enzyme (ACE), a key part of the renin-angiotensin system, is expressed in vascular endothelial cells and can regulate blood pressure by mediating potent vasoconstrictors and dilators. All these feature makes angiotensin converting enzyme a plausible candidate gene for involvement in migraine pathophysiology. We aimed to study the relationship between the ACE gene and migraine pathophysiology in the study.

Angiotensin converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) gene polymorphisms in 200 patients with migraine and 199 healthy non-migrainous controls were analyzed by using polymerase chain reaction (PCR).

For I/D polymorphism in ACE gene, II, ID and DD genotype frequencies, there were not reveal any significant differences between patient and control groups (p=0.322). For I and D allel frequency, there were not any significant differences between patient and control groups (p=0.474).

Our results show that I/D polymorphism of ACE gene is not a risk factor for migraine.

Key Words: ACE, Genetic susceptibility, Migraine, Polymorphism

GİRİŞ

Migren, tekrarlayan baş ağrısı atakları, gastrointestinal ve otonom sinir sistemi semptomlarının kombinasyonu ile karakterize, yaygın kronik bir hastalıktır. Toplumun yaklaşık %10-20'sini etkilediği düşünülen migrenin görülme sıklığı kadınlarda erkeklerdekinden 3-4 kat daha fazladır (1,2). Bugüne kadar migrene yatkınlıkta rol aldığı düşünülen çeşitli aday genler ile migren arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya yönelik çok sayıda çalışma rapor edilmiştir. Güncel çalışmalar migrenin genetik faktörlerle ilgili olduğuna dair güçlü kanıtlar sağlamakla birlikte migren patofizyolojisi tam olarak anlaşılabilmiş değildir (1,2,3).

Anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE) geni; kromozom 17q23 üzerinde yerleşik olup, 26 ekson ve 25 introndan oluşmaktadır. ACE, renin-anjiyotensin sisteminin (RAS) anahtar bir parçasıdır (3,4). RAS, kan basıncı ve serum elektrolitlerinin düzenlenmesiyle ilişkili bir dolaşım sistemidir. Bu sistemdeki anahtar enzim olan ACE, angiotensin I'ı bir vazokonstriktör olan angiotensin II'ye dönüştürür (4,5). Anjiyotensin I'ı anjiyotensin II'ye dönüştürmesinin yanında ACE; endotelial yüzeyde bir vazodilatör olan bradikininin degradasyonunu sağlayan ve bunun sonucu olarak vazodilatör peptid metabolizmasında rol alan, aktif merkezinde çinko bulunan metalloproteinaz bir enzimdir (6).

Bilindiği gibi bradikininin damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca ACE, vazodilatör olan bradikininin aktivasyonunda primer rol oynar ve bu olay kan basıncı ile elektrolit homeostasisinde önemlidir (6).

Oksidatif stres, migrenliler arasında patolojik olarak vasküler reaktiviteye sebep olan endotelial fonksiyon bozukluğuna sebep olabilmektedir. Tüm bunların yanında ACE; damar endotel hücrelerinde ekspresyon edilir ve güçlü vazokonstriktör vazodilatör etkisiyle kan basıncını düzenleyebilir. Bu da ACE'yi

migren patofizyolojisine uygun bir aday gen yapar (4).

ACE geni insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmi ilk kez 1990 da tanımlanmıştır. Bu polimorfizm de ACE D/D ve I/I homozigot; ACE I/D ise heterozigottur. ACE-D, ACE geninin intron 16'sında 190 baz çiftlik bir bölgenin delesyonudur. ACE DD genotipinin kanda artmış angiotensin dönüştürücü enzim aktivitesi ile ilişkili olduğu ve bunun da migren için risk artışına yol açabileceği düşünülmektedir. ACE genindeki insersiyon ise ACE ekspresyonunu azaltmaktadır (2,5,6).

Migren ve ACE-D alleli polimorfizmi arasındaki bağlantıyı gösteren çalışmalar mevcut olmakla birlikte bu ilişkinin altında yatan mekanizma henüz açık değildir (3,5). Bu çalışmada da; ACE genindeki I/D polimorfizmi ile migren arasında bağlantı olup olmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı ve Nöroloji Anabilim Dalı işbirliği ile yapıldı. Çalışma gruplarını, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Nöroloji Polikliniğine başvuran migren tanısı Uluslararası Baş Ağrısı Derneği kriterlerine göre konulmuş olan hastalar ve klinik olarak migrenöz bir baş ağrısı bulunmayan sağlıklı bireyler oluşturdu. Çalışmamıza katılan 200 migren hastasının 176'sı kadın, 24'ü erkek; kontrol grubu olarak katılan 199 sağlıklı bireyin de 127'si kadın, 72'si erkektir. Çalışmamıza dahil edilen migren hastalarının yaş ortalaması $\pm 36,48$; kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması ise $\pm 34,49$ 'dur (Tablo 1).

Bu çalışma için, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonun'dan 02.08.2011 tarihinde 11-BADK-084 kayıt numarası ile onay

alınmıştır. Çalışmanın tamamı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Çalışmamızda, ACE geninin I/D polimorfizminin belirlenmesi için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniği kullanıldı. Toplam hacim 25 µL olacak şekilde, 17,4µL dH₂O; 2,5 mM buffer; 1,5 mM MgCl₂; 0,3mM dNTP mix; 0,6mM spesifik her iki primerler; 0,1U Taq Polimeraz ve 20 ng genomik DNA kullanılarak PCR karışımı hazırlandı. Reaksiyon için kullanılan primerler: F:5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3'; R:5'GATGTGGCCATCACATTCGTCAG AT-3'dir. Kullanılan PCR programı ise denatürasyon sıcaklığı 94°C 'de 2dk; döngü sayısı 30; 94 °C 30sn (denaturasyon), 60 °C 2dk (bağlanma); 72 °C 2dk (uzama) ; 72 °C 5dk (son uzama)'dır. ACE lokusunun üç farklı genotipi (DD, ID, II) % 2'lik agaroz jel elektroforezi ve jel görüntüleme sistemi kullanılarak belirlendi. I alleli 490 baz çifti (bç), D alleli 190 bç olarak gözlemlendi.

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Verilerin istatistiksel analizi, EpiInfo Software 3.2.2 versiyonu (CDC, Atlanta, GA) programı kullanılarak yapıldı. Migren hasta ve kontrol gruplarında ACE genindeki I/D polimorfizminin dağılımı χ^2 veya Fisher testi ile karşılaştırıldı. p değerinin $\leq 0,05$ olması, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Genotip dağılımı ve Hardy-Weinberg denkliği Arlequin Software 2000 (University of Geneva, Switzerland) programı ile test edildi.

SONUÇLAR

Tablo 1 'de migren hastaları ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri gösterilmektedir. İki grup arasında yaş ortalaması bakımından önemli bir fark bulunmamaktadır. Migren hastaları ve kontrol grubu için ACE gen polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Migren hastaları ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri

	Migren grubu (n=200)	Kontrol grubu (n=199)
Kadın	176(%88)	127(%63,8)
Erkek	24(%12)	72(%36,2)
Yaş Ortalaması	36,48	34,49
Auralı Migren(MA)	33	N/A
Aurasız Migren(MO)	167	

Tablo 2. Migren ve kontrollerde ACE gen polimorfizminin Dağılımı

ACE	Migren Hastaları n=200	Kontrol Grubu n=199	P
ACE D/D	70[%35]	58[%29.1]	0.322
I/D	91[%45.5]	105[%52.7]	
I/I	39[%19.5]	36[%18.1]	
Allel Sıklığı			0.474
D	231[%57.75]	221 [%55]	
I	169[%42.25]	177[%45]	

Migren hasta ve kontrol grupları için I ve D allelinin dağılımında önemli bir farklılık gözlenmedi (p=0.474). ACE genotip dağılımı da yine hasta ve kontrol grubu arasında farklı bulunmadı. Tablo 2'de gösterildiği gibi ACE geni II, ID ve DD genotiplerinin frekansları sırasıyla hastalarda %19.5, %45.5, %35 ve kontrol grubunda %18.1, %52.7, %29.1 bulundu. Allel sıklıkları hastalarda I alleli için %42.25, D alleli için %57.75 ve kontrol grubunda I alleli için %45, D alleli için %55 olarak bulundu.

TARTIŞMA

ACE-D alleli yüksek ACE düzeyinden sorumlu olduğundan dolayı, ACE DD genotipi ile migren arasında bağlantı olduğu düşünülmektedir (7). Daha önceki bazı çalışmalarda; ACE geni DD genotipinin sıklığı aurasız migrende yüksek bulunmuştur. Erkek hastalarda migrene karşı ACE DD'nin daha düşük koruyucu etkisi belirtilmektedir (3,8). Bu tür çalışmalar renin-anjiyotensin-aldosteron

sistemin migren patogenezinin bir parçası olduğunu desteklemektedir (8). Çalışmamızda ise ACE geni I/D polimorfizminin allel ve genotip sıklığı bakımından migren hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Türk toplumunda ACE geni I/D polimorfizminin araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Kara ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonuçlarına göre hastaların genotipleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ACE D alleli ($p<0.01$) önemli ölçüde yüksek ve ACE II genotipini ise hastalarda daha düşük bulmuşlardır (4). Özbey ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonuçlarında; Migren hastaları ve kontrol grubunda ACE geninin allelik insidansında (I ve D) ve genotip dağılımında (DD, ID, II) anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (genotip sıklığı $p=0.08$) (5). Çakmak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yine benzer şekilde ACE I/D polimorfizmi için migren hastaları ve kontrol grubu arasında allel sıklığı bakımından önemli bir fark bulunamamıştır. Yine aynı şekilde ACE geninin I/D polimorfizminde D allelinin sıklığı kadın ve erkekler de artarken, I allelinin sıklığı yine her iki grupta düşük bulunmuştur. Erkek hastalarda D alleli sıklığı kadınlardan fazla olduğunu göstermişlerdir (9).

Norveç'te Tronvik ve arkadaşlarının 347 migren hastası ve 403 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları ACE I/D polimorfizm analiz çalışmasında yine ACE genotip ve allel dağılımı migren hastaları ve kontroller arasında anlamlı fark bulunmadığı gösterilmiştir (9,7). Boston'da Schürks ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışma sonuçlarına göre auralı ve aurasız kadın migren hastaları arasında ACE I/D polimorfizmi için allel ve genotip dağılımı bakımından önemli bir fark bulunmadığı rapor edilmiştir. Ayrıca, ACE I/D polimorfizmi ile migren geçmişi bulunmayan kişiler arasında da anlamlı bir bağlantı bulunmamıştır (10). Japonya'da 54 auralı migren, 122 aurasız migren hastası ve 248 başağrısı bulunmayan

sağlıklı bireyin katıldığı çalışmada, ACE D alleli auralı migrende kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Auralı migrende DD genotipinin sıklığı kontrol grubundan daha yüksek bulunurken ($p<0.01$), aurasız migren grubu kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre Japon auralı migren hastaları için ACE genin D alleli ve DD genotipinin risk faktörü oluşturabileceğini bildirmişlerdir (11). Avusturalya'da yapılan bir çalışmada da yine bizim sonuçlarımıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. ACE I/D polimorfizmi için allel ve genotip sıklığı bakımından önemli bir bağlantı bulunmamıştır ($p>0.05$) (12).

Literatürü taradığımız kadarıyla bugüne kadar yapılan ACE I/D polimorfizmi çalışmalarına göre bizim sonuçlarımıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. Her ne kadar bazı çalışmalarda D allelinin sıklığı migren hasta gruplarında yüksek bulunsa da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç tespit edilememiştir (4,11). Sonuç olarak çalışmamızda migren hastaları ve kontrol grubu arasında ACE I/D polimorfizminin genotip/allel sıklığında anlamlı bir fark bulunmadı. Bu nedenle ACE I/D gen polimorfizminin migrene yatkınlıkta etkili bir faktör olmadığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Schürks M, Rist PM, and Kurth T. MTHFR 677C>T and ACE D/I polymorphisms in migraine: a systematic review and meta-analysis. *Headache*. 2010 April; 50(4): 588–599. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19925624>)
- 2- Joshi G, Pradhan S, Mittal B. Role of the ACE ID and MTHFR C677T polymorphisms in genetic susceptibility of migraine in a north Indian population. *Journal of the Neurological Sciences* 2009;277:133–137. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19081115>)
- 3- Lin JJ, Wang PJ, Chen CH, Yueh KC, Lin SZ, and Harn HJ. Homozygous deletion genotype of angiotensin converting enzyme confers protection against

- migraine in man. *Acta Neurol Taiwan* 2005; 14: 120-125. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16252613>)
- 4- Kara I, Ozkok E, Aydin M et al. Combine deffects of ACE and MMP-3 polymorphisms on migraine development. *Cephalalgia*. 2007;27:235. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17381556>)
- 5- Özbey Ü, Etem E, Özel S, Berilgen MS. Is there a relation between Insertion/Deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in patients of migraine with aura and migraine without aura in region of Eastern Turkey? *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30(2) :502-6. (http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/abstract_57739.html)
- 6- Turgut S. 2005. Anjiotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*:12(4)/53-57. (<http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/sdutfd/article/viewFile/1107/1238>)
- 7- Tronvik E, Stovner LJ, Bovim G et al. Angiotensin-convertingenzyme gene insertion/deletion polymorphism in migraine patients. *BMC Neurology* 2008; 8:4. (<http://www.biomedcentral.com/1471-2377/8/4>)
- 8- Alaşehirli B, Gür M, Akçalı A, Geyik S et al. Angiotensin converting enzyme gene Insertion/Deletion polymorphism in migraine patients. *Turk Norol Derg* 2009; 15:161-165. (<http://www.tjn.org.tr/eng/jvi.aspx?pdif=tjn&plng=eng&un=TJN-16046&look4=>)
- 9- Cakmak EA, Çataloluk O, Yoldaş T et al. Migraine and angiotensin-converting enzyme association in Turkish patients. *The Pain Clinic* 2003;Vol. 15, No. 4, pp. 473–477. (<http://www.ingentaconnect.com/content/maney/tpc/2003/00000015/00000004/art00020>)
- 10- Schu`rks M, Zee RYL, Buring JE, Kurth T. ACE D/I polymorphism, migraine, and cardiovasculardisease in women. *Neurology* 2009; 17;72(7):650-6. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19221299>)
- 11- Kowa H, Fusayasu E, Ijiri T et al. Association of theinsertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene in patients of migraine with aura. *Neuroscience Letters* 374. 2005; 129–131. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15644278>)
- 12- Lea RA, Ovcaric M, Sundholm J, Solyom L, MacMillan J, Griffiths LR. Genetic variants of angiotensin converting enzyme and methylenetetrahydrofolate reducta se may act in combinati onto increase migraine susceptibility. *Molecular Brain Research* 2005; 136: 112–117. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15893594>)