

Farklı spermatogenik düzensizliklere sahip hastaların spermatozoa mikroRNA ekspresyon profillerindeki değişim

Abu-Halima M, Hammad M, Schmitt J, Leidinger P, Keller A, Meese E, Backes C.
Fertil Steril. 2013 Apr;99(5):1249-1255.

MikroRNA'lar (miRNA'lar) transkripsiyon sonrası düzenlemede rol alan kısa (20-23 nükleotid), tek iplikli ve kodlama yapmayan RNA molekülleridir. Yakın zaman içerisinde, miRNA'ların gelişim, hücre büyümesi ve farklılaşma gibi çok çeşitli biyolojik süreçlerde temel rol aldıkları tespit edilmiştir. Bu moleküllerin düzenlenmesinde meydana gelebilecek olan hataların, erkek infertilitesine yol açan süreçte önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalar, testiküler miRNA'ların spermatogenez evresine göre değişim gösterdiğini ve spermatogenez sürecinde miRNA üretiminin ana kaynağının geç mayotik ve haploid germ hücreleri olduğunu öne sürmektedir. Bu nedenle, miRNA'ların spermatogenezde olduğu kadar fertilizasyonda da önemli rol aldığı ve hatta embriyonun fenotipi üzerinde de etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma, normal ve kusurlu spermatogenezde farklı ekspresyona sahip miRNA'ların varlığını araştırmak ve erkek infertilitesinin tanısı için doğru ve kesin bir biyo-belirteç tanımlamak amacıyla yapılmıştır.

lamak amacı ile yapılmıştır.

Çalışmada, infertilite tedavisi için yardımla üreme tekniklerinden yararlanan çiftlerde erkek bireylerden elde edilen sperm örnekleri kullanılmıştır. Semen parametreleri WHO'nun 2010 kılavuzuna göre değerlendirilmiş ve sperm hazırlığı gradient ve ardından yüzdürme yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Üç grup altında sınıflanan sperm örneklerinden (normozoospermik (N), n=9; astenozoospermik (A), n=9 ve oligoastenozoospermik (OA), n=9) miRNA izolasyonu yapılmış, ardından mikroarray platformunda (Sureprint G3 Human v16 miRNA, 8x60K, Agilent) analiz edilerek miRNA ekspresyon profili elde edilmiştir. Mikroarray analiz sonuçları, seçilen miRNA'ların ekspresyonlarının qRT-PCR yöntemi ile çalışılması sonucunda doğrulanmıştır. Gruplar arasında ekspresyon seviyelerinde iki katından fazla değişim olan miRNA'lar istatistiksel olarak (unpaired two-tailed t test) değerlendirilmiş ve P değeri <0,05 olanlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Tablo 1: Normozoospermik (N) bireyler ile karşılaştırıldığında oligoastenozoospermik (OA) ve astenozoospermik (A) bireylerin spermatozoa örneklerinde en fazla değişim gösteren miRNA'lar. Her iki grupta ortak olanlar koyu olarak belirtilmiştir.

miRNA	N/ OA			miRNA	N/A		
	P değeri	Kat değişimi	Düzenlenme		P değeri	Kat değişimi	Düzenlenme
hsa-miR-141	.00018	8.21	Yükselme	hsa-miR-30a	.02030	8.82	Yükselme
hsa-miR-193b	.00149	7.44	Yükselme	hsa-miR-363	.00240	8.34	Yükselme
hsa-miR-26a	.01788	6.67	Yükselme	hsa-miR-26a	.00242	8.29	Yükselme
hsa-miR-200c	.00629	6.50	Yükselme	hsa-miR-200a	.00281	8.19	Yükselme
hsa-miR-29a	.00488	6.50	Yükselme	hsa-miR-141	.00142	7.85	Yükselme
hsa-miR-429	.00059	6.06	Yükselme	hsa-miR-429	.00108	7.20	Yükselme
hsa-miR-200a	.00071	5.91	Yükselme	hsa-miR-193b	.00530	7.02	Yükselme
hsa-miR-99a	.00322	5.60	Yükselme	hsa-miR-29a	.00154	6.67	Yükselme
hsa-miR-363	.00100	5.42	Yükselme	hsa-miR-1274a	.01429	6.14	Yükselme
hsa-miR-34b*	.00000381	34.30	Azalma	hsa-miR-24	.000060	6.02	Yükselme
hsa-miR-15b	.00000347	20.10	Azalma	hsa-miR-4286	.01827	4.48	Yükselme
hsa-miR-34c-5p	.00001902	20.04	Azalma	hsa-miR-99a	.00245	4.15	Yükselme
hsa-miR-34b	.00000043	18.80	Azalma	hsa-miR-1973	.00912	12.43	Azalma
hsa-miR-449a	.00001717	15.50	Azalma	hsa-miR-34b	.01342	12.16	Azalma
hsa-miR-1973	.00003654	12.55	Azalma	hsa-miR-122	.00863	8.43	Azalma
hsa-miR-122	.00000056	12.35	Azalma				
hsa-miR-16	.00023	10.70	Azalma				
hsa-miR-19a	.00036	9.85	Azalma				

N grubundaki miRNA ekspresyonları A grubu ile karşılaştırıldığında 77 (%6,39, 50 miRNA'nın ekspresyonu yükselmiş, 27 tanesinin azalmış) ve OA grubu ile karşılaştırıldığında 86 (%7,14, 42 miRNA'nın ekspresyonu yükselmiş, 44 tanesinin azalmış) farklı ekspresyonu olan miRNA tespit edilmiştir. Ancak, A ve OA arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bu miRNA'lardan 34 tanesinin N/A ve N/OA karşılaştırmalarında ortak olduğu gözlenmiştir. Tespit edilen miRNA'lar Tablo 1'de özetlenmiştir. Özet olarak yazarlar, 5 yeni miRNA tespit etmiştir ve bu miRNA'ların spermatogenez basamaklarında rol oynayabileceğini öne sürmektedirler. Bu miRNA'lardan, miR-429 ve miR-1973 her iki karşılaştırma grubunda da yer alırken, miR-1274a ve miR-4286 sadece N/A ve miR-34b* sadece

N/OA karşılaştırma grubunda yer almaktadır.

Sonuç olarak bu çalışma, spermatogenez hasarlı ve normal bireyler arasında miRNA'ların farklı ekspresyonunun olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, bu sonuçlar miRNA'ların gelecekte erkek infertilitesi için biyo-belirteç olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu işaret etmektedir.

Çeviri:

Dr. Bilge Özsait¹, Prof. Dr. Nihan Erginel-Ünaltuna²
¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, ÜYTE Laboratuvarı,
²Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı