

UOT 575-27

**SONSUZLUĞU OLAN KİŞİLƏRDƏ
Y XROMOSOMUNUN MİKRODELESİYALI
AZF LOKUSUNUN ANALİZİ****F.D.MARDOMI, M.Ş.BABAYEV***Bakı Dövlət Universiteti**mardomi.farid@mail.ru*

Tədqiqatın məzmununun əsasını sonsuzluqdan əziyyət çəkən kişilərdə Y xromosomunun AZF lokusunun mikrodelesiyalarının analizi təşkil edir. Tədqiqatlar Təbrizin «Royan» sonsuzluq mərkəzinə müraciət edən qeyri-normal kariotip və qeyri-konstruktiv arqumentlərə malik olan kişilər üzərində aparılmışdır. Məqalədə qeyd edilir ki, spermatogenezin pozulması ilə bağlı, genetik şərtlənmiş kişi sonsuzluğunun səbəbinin 10-15%-i Y xromosomlarının struktur pozulması ilə əlaqədardır. Bizim tədqiqatların məqsədi kişi sonsuzluğunun genetik pozulmasında azoospermiyanın obstruktiv olmayan kriteriyasının müəyyənləşməsinə üzə çıxarmaqdır.

Açar sözlər: xromosom, azoospermiya, spermatozoid, mayalanma, eyakulyat, sonsuzluq, genetika, mutasiya, delesiya.

GİRİŞ

Müasir dünyada sonsuzluq, cəmiyyətin demoqrafik əsaslarına toxunan mühüm tibbi-genetik sosial problemdir. Hazırda evli cütlüklərin 15%-i sonsuzluqdan əziyyət çəkir və bu zaman kişi faktorunun sayı dayanmadan artır. Uroloqların Avropa assosiasiyasının göstərdiklərinə əsasən hazırda bu rəqəm 50%-ə çatır [1]. Təxminən 5% kişidə reproduktiv yaşda spermanın müxtəlif kəmiyyət və keyfiyyət dəyişikliyi baş verir. Kişi sonsuzluğunun təqribən 1/3-ni sonsuzluğun ideopatik tipinə aid edirlər ki, bunun çox hissəsi genetik faktorlarla şərtlənir; buraya spermatogenez genlərində mutasiya və ya müxtəlif xromosom pozulmaları aid edilir [2, 3].

Genetik faktorların sonsuzluğun etiologiyasında roluna həsr edilmiş çoxsaylı tədqiqatların nəticələri göstərir ki, reproduktiv pozulma strukturunda qeyd edilən faktorların aparıcı rolu kişilərdə olduğu kimi, qadınlarda da aşkar edilir [4,5]. Belə ki, kişilərdə sonsuzluğun ağır formalarının 30-50%-i genetik faktorlarla şərtlənir. Kariotiplərin anomaliyalarından əlavə, kişilərdə sonsuzluğun genetik səbəbləri Y xromosomunun delesiyasından (xromosom çatışmazlığı) asılıdır ki, bunlar da AZF lokusunu əhatə edir (tutur). Bu lokusda yerləşən genlər spermatogenez prosesində mühüm rol oynayır.

Göstərilən mutasiyanın spermoqramın bu göstəriciləri ilə müxtəlif popul-

yasiyalarda geniş yayılması orta hesabla 7,6%-ni [6,7] təşkil edir. Y xromosomunun mikrodelesiyası – azoospermiyanın orta hesabla 10-15%-nin və oliqozoospermiyanın ağır dərəcəsinin 5-10%-nin müəyyən sahələrə düşməsidir; bu isə spermatogenezin pozulması və kişilərdə sonsuzluqla şərtlənir, AZF lokusunun delesiyası spermatogenezin aktivliyinin aşağı düşməsi, onun cinsiyyət hüceyrəsinin və toxum kanallarında praktiki olaraq olmaması sayəsində spermatogenezin müxtəlif dərəcədə pozulması ilə bağlıdır – Sertoli hüceyrə sindromu (SHS) [4-6, 8-12].

Spermoqrammaların dəyişilmiş göstəriciləri zamanı azoospermiya və oliqozoospermiyanın ağır dərəcəsi spermatogenezin pozulmasının ən çox ağır formalarından biridir və kişilərdə bütün pozulmuş reproduktiv funksiyalarından 10-20% və 15-20%-ə uyğun gəlir. Müasir dövrdə mövcud olan molekulyar-genetik, sitogenetik və AZF lokusunu tutan Y xromosomunun makro- və mikrodelesiyaları azoospermiyalı kişilərdə 10-15% və oliqozoospermiyanın ağır dərəcəli kişilərdə 5-10% olduğunu müşahidə etməyə imkan verir [5-8, 11-15].

İlk olaraq kişilərdə sonsuzluq və spermatogenezin pozulma etiologiyasında Yq11 lokusunun delesiyasının rolu 1976-cı ildə göstərilmişdir (L.Tiepolo və O.Zuffardi [16]. Sonrakı sitogenetik və molekulyar-genetik tədqiqatlar STS texnologiyasının (*sequence tagged sites*) köməyiylə Y-xromosomların 23 delesiyalı məsafəni birləşdirən [17] dəqiq xəritəsini qurmağa imkan verdi. AZF lokusunun Y xromosomlarında uzun çiyinin detal hissələrinin çoxluğu təsdiq edildi; onun delesiyası spermatogenezin pozulmasına cavabdeh idi.

1996-cı ildə P.H.Vogt və onun həmmüəllifləri 26 kişidə aşkar edilən delesiya lokalizasiyasının əldə edilmiş məlumatlar əsasında Yq11.21-q11.23 lokusunda üç üst-üstə düşməyən subregionu ayırmağı təklif etdilər: AZFa, AZFb və AZFc [18].

Material və metodlar

2018-2019-cu illərdə yenicə sonsuzluğa tutulmuş pasiyentlər müayinə edildi. Spermioloji tədqiqatların əsasında sonsuzluğa malik kişiləri 2 qrupa böldülər: azoospermiyalı qrup və kontrol qrupu (cədvəl 1). Azoospermiya qrupunda 57 xəstə, kontrol qrupda 25 sağlam (fertil) kişi var idi.

Müayinə ümumkliniki, ümumi və xüsusi androloji tədqiqatları əhatə edir. Spermatoloji (standart spermioloji tədqiqat, bəzi hallarda yumurtalığın biopstatının histoloji tədqiqi), molekulyar-genetik tədqiqatlar (Y xromosomunun mikrodelesiya analizi) da əsas yer tutur.

Eyakulyatın spermioloji analizi ÜST-ın [19] göstərdiyi kimi standart metodika üzrə yerinə yetirilirdi. Yumurtalığın biopstatının histoloji tədqiqatı sistoloji analiz [9] yolu ilə aparılırdı.

Polimeraz zəncirvari reaksiyasını [PZR] Real-time amplifikatorunda aparılmışdır. Real-time CFX96 Touch-Taq-polimeraz-ın istifadəsilə Bio-Rad Laboratories (ABŞ) firmasının istehsalıdır.

AZF lokusunun mikrodelesiyasının analizi Y-xromosomların [12] molekul-

yar diaqnozunun göstəricisinə uyğun aparılırdı. Delesiyları aşkara çıxarmaq üçün multipleks amplifikasiyadan (MPA) istifadə edilmişdir, bu isə göstərilən göstəricinin xüsusi modifikasiyasında təklif edilmişdir. Analizin birinci mərhələsində delesiyların aşkarlanması üç subregionda AZFa, AZFb, AZFc-də yerinə yetirilirdi. PZR -in yerinə yetirilməsi üçün DNT standart metodika əsasında müəyyən praymer dəsti ilə çıxarılmışdır ki, o da öz növbəsində Y-spesifik STSs-nin üç cütünü özündə birləşdirirdi.

Nəticələr

57 nəfər sonsuzluqdan əziyyət çəkən müayinə edilmiş kişilərdə AZF lokusunun delesiyası 6 nəfərdə (10,5 %) aşkar edilmişdi (cədvəl 1). Kontrol qrupunun fertil kişilərinin heç birində bir dənədə olsun Y-delesiyası tapılmamışdı. Y-xromosom delesiyları yalnız azoospermiyalı xəstələrdə müəyyən edilmişdir. Hər şeydən əvvəl delesiylar AZFc- subregionunda yerləşmişdir – 3 nəfər (50,9%) (cədvəl 2). AZFb subregionunun mikrodelesiyları 2 xəstədə aşkar edilmişdir (AZF lokusunun bütün hallarda delesiylarının 33,3%-i) və bir xəstədə AZFa+b+c subregionunun mikrodelesiyları (16,6 %) üzə çıxarıldı.

Cədvəl 1

Müayinə edilmiş kişi qruplarında AZF lokusunun Y xromosomunun mikrodelesiylarının tezliyi

Nö	Pasientlər qrupu	Müayinə edilmiş kişilərin miqdarı	AZF lokusunda Y xromosomunun mikrodelesiylarının aşkar edilmə sayı	Aşkar edilmiş mikrodelesiyların %-i
1	Azoospermiyalı pasientlər	57	6	10,5 %
2	Kontrol qrup	30	-	0 %

Cədvəl 2

Y-xromosomun uzun çiyinin AZF lokusunda mikrodelesiyların aşkar edilmiş miqdarı

Nö	Pasientlər qrupu	Müayinə edilmiş kişilərin miqdarı	Aşkar edilmiş mikrodelesiyların %-i
1	AZFb – subregionunun mikrodelesiyları	2	33,3
2	AZFc – subregionunun mikrodelesiyları	3	50,0
3	AZFa+b+c – subregionunun mikrodelesiyları	1	16,6

AZF-lokusunu mikrodelesiyları aşkar edilən kişilərdəki spermioloji və histoloji şəkil spermatogenezin pozulmasının müxtəlif dərəcələrini göstərmişdir. AZFb- subregionu mikrodelesiyları olan hər iki tip pasientlərdə azoospermiyanın olduğu qeyd edilmişdir. Onlardan birinin üzərində yumurtalığın

bioptat sindromunu aşkar etməyə imkan vermişdir. Molekulyar analizin nəticələrinə əsasən bu pasientlərdə delesiya sahəsi AZFb – subregionunun sY11.97 markerinin tutduğu müəyyən edilmişdir.

AZFc subregion delesiyları olan kişilərdə spermatozoidlər müşahidə edilməmişdir (azoosermiya). Bu pasientlərin ikisinin üzərində aparılan tədqiqatın nəticəsində xəstəlik yumurtalığın bioptat histopreparatının analizi sayəsində müəyyən edildi ki, onların birinin toxum kanallarında cinsiyyət hüceyrələri aşkar edilməmişdir.

Müzakirə

Sonsuzluğa malik kişilərin Y-xromosomlarının mikrodelesiylarının aşkar edilməsi tezliyi müxtəlif tədqiqatlarda variasiya edilir (dəyişir) (1 %-dən 35 %-dək) [7,8,10, 20]. Bu delesiyların geniş yayılması tezliyinin aşkar edilməsi bir sıra faktorlarla şərtlənir; bunların arasında mikrodelesiyların analizinin aparılması üçün pasientlərin seçilməsi kriteriyası böyük rol oynayır. Fertil olmayan kişilərin seçilməsi üçün aparılan tədqiqatda 10,5% müayinə edilənlərin AZF – lokusunun Y-xromosomlarının müxtəlif delesiyların daşıyıcı olduğu müəyyən edilmişdir; bu isə reproduksiyanın pozulmasına kifayət qədər səbəb olan amildir. Analoji tədqiqatların nəticələrinin analizi göstərmişdir ki, tez-tez AZFc subregionuna mutasiya təsir edir. Bizim tədqiqatların nəticələri əsasında aşkar edilən mikrodelesiyların miqdarı ümumilikdə ayrı-ayrı subregionların delesiylası və ya bir neçə regionu əhatə etməsi tezliyinə analojidir; həmçinin Asiya populyasiyasında delesiyların rast gəlinən orta tezliyi ilə analojidir [20]. Bu zaman bizim aşkar etdiyimiz delesiyların müxtəlif növləri arasındakı mütənəsiblik, sonsuz kişilərin AZF lokusunda delesiya pozulmalarının strukturunu göstərir.

AZFb və AZFc subregionlarını əhatə edən delesiylar zamanı kişilərdə əsasən azoosermiya və Sertoli hüceyrə sindromu (SHS) aşkar edilmişdir. Delesiyların ölçüsündən və lokuslaşmasından spermatogenezin pozulma dərəcəsiindən asılılığın müəyyən edilməsi, oositin sitoplazmasına spermatozoidin inyeksiyasını həyata keçirmək üçün İCSI (İntra Cytoplazmatik Sperm İnjeksiya) yararlı spermatozoidlərin alınma imkanları üçün proqnozun verilməsi böyük əhəmiyyətə malikdir [5, 8, 11]. AZFa və ya AZFb subregionlarını tutan delesiyların olması yetkin cinsiyyət hüceyrələrinin alınmasının qeyri-mümkünlüyünü göstərir. Lakin AZFc delesiyları olan pasientlərdə yumurtalığın biopsiyası zamanı təxminən 50-70% təsadüfdə yetkin spermatozoidləri almaq olar [5, 21].

Nəticə

Sonsuz kişilərdə Y-xromosomun mikrodelesiylarının çoxsaylı tədqiqatları nəticəsində, həmçinin kişi cinsiyyət hüceyrələrinin inkişafı və diferensiasiyasında AZF lokusunda genlərin rolunun qiymətləndirilməsi, insanda spermatogenezin nəzarətində Y-xromosomunun əhəmiyyətli roluna şəhadət verir.

Genetika, andrologiya, reproduktiv təbabət sahəsi ilə məşğul olan mütəxəssislər belə fikrə gəlmişlər ki, kişilərdə sonsuzluğun geniş yayılmasının səbəblərindən biri azoospermiyadır.

Y-xromosomu mikrodelesiyalarının tədqiqi praktikada geniş yer tutur. Klassik mikrodelesiyaların olmasını tapmaq üçün Y-xromosomlarının molekulyar-genetik analizi azoospermiyalı və ağır dərəcəli oliqozoospermiyalı bütün kişilərə təklif edilməlidir. Azoospermiya və ağır formalı oliqozoospermiyalı kişilərin Y-xromosomun AZF lokusunun mikrodelesiyalarının tədqiqi spermatogenezin pozulmasının genetik səbəbini müəyyənləşdirməyə imkan verir. Bu mühüm diaqnostik və proqnostik ölçüdür, hansı ki, müalicə taktikasının, sonsuzluğun ləğv edilməsi metodlarının seçimini müəyyən edir, həmçinin ekstrakorporal mayalanmanın aparılması üçün spermatozoidlərin alınması mümkünlüyünün proqnozunu verir; əsasən spermatozoidin intrasitoplazmatik injeksiyanın oositə daxil edilməsi ilə.

Sonsuzluğa malik kişilərin AZF lokusunda Y xromosomlarının mikrodelesiyalarının yüksək tezliyini nəzərə alaraq, spermatozoid pozulması olan bütün pasientlərə qeyri-fertilliyin genetik və genetik olmayan səbəblərinin istisnası üçün AZF lokusunun genotipinin araşdırılmasını məsləhət görmək olar.

ƏDƏBİYYAT

1. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. Guidelines on Male Infertility. *Eur Assoc Urol* 2012; 62 (2): 324-332. DOI: 10. 1016/ j.eururo. 2012.04.048
2. Krausz C, Forti G, McElreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J of Androl* 2003;26(2):70-75. DOI:10.1046/ j.1365-2605. 2003. 00402.x
3. Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet* 1995;10(4):383-93. DOI: 10.1038/ng0895-383
4. Гоголевский П.А., Гоголевская И.К. Y- хромосома и мужское бесплодие (обзор литературы). *Проблемы репродукции* 1999; 5 (5): 26-34.
5. Черных В.Б., Курило Л.Ф., Поляков А.В. Y-хромосома, AZF-микроделеции и идиопатическое бесплодие у мужчин, *Проблемы репродукции*. 2001, 5 (7): с. 47-58.
6. Choi J, Song SH, Bak CW, Sung SR, Yoon TK, Lee DR, et al. Impaired spermatogenesis and gr/gr deletions related to Y chromosome haplogroups in Korean men. *PLoS One* 2013; 7(8): e43550. DOI:10.1371/journal. pone. 0043550
7. Ferlin A, Moro E, Rossi A, Foresta C, Rossato M, Garolla A, et al. Role of the AZFa candidate genes in male infertility. *J of Endocr Invest* 2000; 23(10): 646-651. DOI: 10.1007/bf03343788
8. Беляева Н.А., Глинкина Ж. И., Калинина Е. А. Современные аспекты и проблемы мужского бесплодия, ассоциированного с мутацией AZF локуса хромосомы Y. *Акушерство и гинекология* 2012; 8(2): с. 21-27.
9. Черных В.Б., Курило Л.Ф., Гоголевская И.К. Комплексное клинико-генетическое обследование пациентов с азооспермией или олигозооспермией неясной этиологии. *Проблемы репродукции* 2001, 3 (7): с. 58-63.
10. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001; 22(2):226-239. DOI:10.1210/ edrv.22.2.0425
11. Krausz C, Quintana-Murci L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis. *Hum Reprod*

- 2000;5(7):1431-1434. DOI:10.1093/humrep/15.7.1431
12. Simoni M, Bakker E, Eurlings M, Matthijs, Moro, Muller, et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletion. *Int J Androl* 1999; 22(5):292-299. DOI:10.1046/j.1365-2605.1999.00193.x
 13. Зобкова Г.Ю., Баранова Е.Е., Донников А.Е., Мсхалая Г.Ж., Залетова В.В., Кошкина Т.Е., Трофимов Д.Ю. Спектр делеции фактора азооспермии (AZF) у мужчин с нормальным и нарушенным сперматогенезом. *Проблемы репродукции* 2017; 23(4): с. 109-113.
 14. Волков А.Н., Цуркан Е.В. PtsR-диагностика AZF-микроделеции при установлении генетических причин мужского бесплодия. *Медицина в Кузбассе* 2016; 3: с. 23-27.
 15. Здановский В. М., Гоголевский П. А., Гоголевская И.К. Тестирование микроделеций на Y-хромосоме у пациентов с различными нарушениями сперматогенеза. *Проблемы репродукции* 2000; 6(6): с. 56-59.
 16. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34(2):119-124. DOI:10.1007/bf00278879
 17. Vollrath D, Foote S, Hilton A, Brown L, Beer-Romero P, Bogan J et al. The human Y chromosome: a 43-internal map based on naturally occurring deletions. *Science* 1992 Oct; 258 (5079): 52-59. DOI:10.1126/science.1439769
 18. Vogt PH, Edelmann A, Hirschmann P, Kohler MR. The azoospermia factor (AZF) of the human Y chromosome in Yq11: function and analysis in spermatogenesis. *Hum Mol Gene* 1996;5(7): 933-943. DOI:10.1071/rd9950685
 19. WHO (1999). Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. Четвертое издание. Cambridge University Press, 1999. Пер. с англ. Р.А. Нерсисяна. Научн. ред. перевода проф. Л. Ф. Курило. М. 2001, 143 с.
 20. WangRX, FuC,Yang YP,Han RR,Dong Y,DaiRL, et al. Male infertility in China: laboratory finding for AZF microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile men from Northeastern China. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27(7): 391–396. DOI: 10.1007/s10815-010-9420-9
 21. Naina Kumar and Amit Kant Singh Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature *J Hum Reprod Sci.* 2015 Oct-Dec; 8(4): p.191–196.

АНАЛИЗ МИКРОДЕЛЕЦИЙ AZF ЛОКУСА У ХРОМОСОМЫ У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ

Ф.Д.МАРДОМИ, М.Ш. БАБАЕВ

РЕЗЮМЕ

Основное содержание исследования составляет анализ микроделеций AZF локуса Y хромосомы у мужчин, страдающих бесплодием. Исследования проводились в Гебризском Центре бесплодия «Roуap» на мужчинах, обратившихся в центр при наличии неконструктивных аргументов и нормального кариотипа. В статье отмечается, что причиной генетически обусловленного мужского бесплодия, связанного с нарушением сперматогенеза, в 10-15% случаев являются структурные нарушения Y-хромосомы. Целью нашего исследования явилось уточнение структуры и определение роли генетических нарушений при мужском бесплодии, а также определении критериев необструктивной азооспермии.

Ключевые слова: хромосома, азооспермия, сперматозоид, оплодотворение, эякулят, бесплодие генетика, мутация, делеция.

ANALYSIS OF AZF MICRODELETIONS OF THE Y CHROMOSOME LOCUS IN MEN WITH INFERTILITY

F.D.MARDOMI, M.Sh.BABAEV

SUMMARY

The main content of the study is the analysis of AZF microdeletions of the Y chromosome locus in men suffering from infertility. The studies were carried out at the Royan Fertility Center in Tabriz on men who applied to the center with non-constructive arguments and normal karyotype. The article notes that the cause of genetically determined male infertility associated with impaired spermatogenesis, in 10-15% of cases, are structural abnormalities of the Y chromosome. The aim of our study was to clarify the structure and determine the role of genetic disorders in male infertility, as well as to determine the criteria for non-obstructive azoospermia.

Keywords: chromosome, azoospermia, spermatozoon, fertilization, ejaculate, infertility genetics, mutation, deletion.