

Y kromozomu mikrodelsiyonları ve erkek infertilitesi

Uzm. Dr. Aysel Kalaycı Yiğın¹, Doç. Dr. Ahmet Gökçe²

¹İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD

²Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD

İnfertilite, korunma yöntemi kullanmadan düzenli cinsel ilişkiye rağmen bir yıl içerisinde gebelik sağlanamaması olarak tanımlanmaktadır. Çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen bu durumun %40–50'sini erkeğe ait nedenler oluşturmaktadır (1,2). Erkek infertilitesinin etiolojisinde hormonal bozukluklar, ürogenital enfeksiyonlar, cinsel problemler, spermatogenez sürecindeki bozukluklar ve genetik nedenler temel rol oynarlar (3–5). Genetik faktörler dört ana başlık altında toplanabilir;

- 1- Sperm fonksiyonlarını bozan genetik hastalıklar (Primer silier diskinezi, myotonik distrofi, Noonan sendromu, orak hücreli anemi, genetik endokrinopatiler vb).
- 2- Doğumsal duktus agenezisi yapan kistik fibroz (CFTR) gen mutasyonları.
- 3- Kromozom anomalileri
- 4- İzole spermatogenez defekti yapabilen Y kromozom mikrodelsiyonları (6,7).

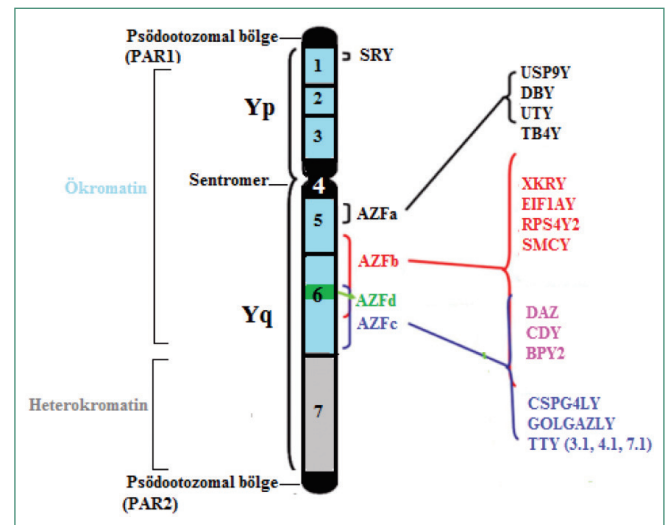
Spermatogenez primordial germ hücrelerinden sperm üretimiyle sonuçlanan kompleks bir süreçtir. Bu süreçte hem kromozomal seviyede meydana gelen sayısal ve yapısal bozukluklar hem de gen düzeyinde oluşan mutasyonlar infertiliteye neden olabilir. Bunların arasında Y kromozomu erkek germ hücrelerinin gelişimi ve devamlılığının düzenlenmesinden sorumlu olduğundan temel rol oynar (8).

İnsanda Y kromozomu tüm genomun yaklaşık %2–3'ünü oluşturur. Kısa kolu Yp ve uzun kolu Yq olarak adlandırılır. Y kromozomu psödootozomal, heterokromatin ve ökromatin bölgelerden oluşur. Psödootozomal bölgeler (PARs) Yp'nin (PAR1) ve Yq'nun (PAR2) uç kısımlarında bulunur. Bu bölgeler, mayoz esnasında X kromozomunun psödootozomal bölgeleriyle rekombinasyona girerler. Psödootozomal bölgede bulunan genler aynı otozomal genler gibi kalıtlıdır (9). Y kromozomunun çoğunu (%95) rekombinasyona girmeyen bölge (NRY) olarak adlandırılan kromozomun heterokromatin ve ökromatin bölgeleri

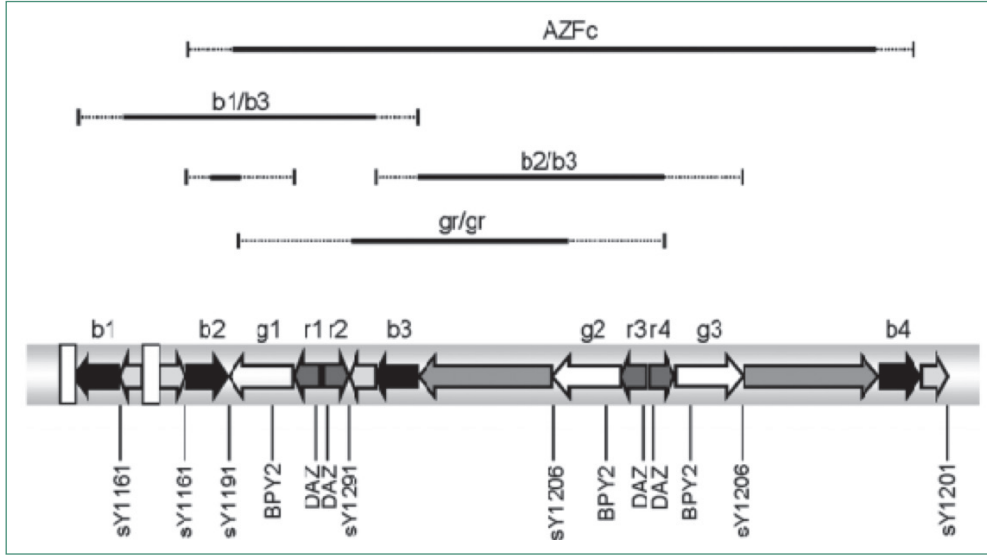
oluşturur. Heterokromatin bölge Yq'nun distalinde bulunur ve genetik olarak etkisiz kabul edilen bu bölgenin çoğunluğunu tekrar dizileri (DYZ1 ve DYZ2) oluşturur. Ökromatin bölge ise PAR1'in distalinde yer alır ve Yp ve Yq'nun parasentromerik bölgeleri ile sentromer bölgesini oluşturur (Şekil 1). Cinsiyetin belirlenmesi, gonadoblastom, boy kontrolü ve Turner stigmata ve spermatogenezden sorumlu tüm aktif genler bu bölgede lokalize olmuştur (8).

Y kromozomu Mikrodelsiyonları ve Oligo/Azospermi

Y kromozomunun kısa kolundaki (Yp) genler (SRY) testis gelişiminde, uzun kolundaki (Yq) genler ise spermatogenezde rol alırlar. Y kromozomunda bulunan bu genlerin mikrodelsiyonlarıyla infertilite arasında bağlantılar bulunmaktadır. Y kromozomu mikrodelsiyonları ve spermatogenez arasındaki ilişkiyi ilk defa 1976 yılında Tiepolo ve Zuffardi göstermiştir (10). Tiepolo ve Zuffardi 1170 erkekte yaptıkları karyotip analizi sonucunda 6 azospermik erkekte Yq'nun distalindeki mikrodelsiyonları mikroskobik olarak gözlemlemişlerdir. Altı vakanın ikisinde infertil erkeklerin babalarının normal Y kromozomuna sahip oldu-



Şekil 1. Y kromozomunun yapısı ve gen bölgeleri (31).



Şekil 2. Y kromozomu AZFc bölgesi haritası (25).

ğunu ve bu vakalarda delesyonların de novo olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalarının sonucunda fertilité geni ya da gen bölgelerini Y kromozomu üzerinde bulunan azospermia factor (AZF) olarak adlandırmışlardır.

AZF mikrodelesyonları non-obstrüktif azospermide %15, şiddetli oligospermide %5–10 görülür. AZF genleri Y kromozomunun uzun kolunda AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd bölgelerinde yer almaktadır (11). AZFa bölgesi diğer bölgelerden ayrı bulunmaktadır. AZFb ve AZFc bölgeleri ise, delesyonlarının sonucu fenotipik olarak farklı olmasına rağmen, dizileri Yq bölgesinde çakışır. Bu bölge AZF b/c olarak adlandırılır.

AZFa bölgesi Yq'nun 11.21 bölgesinde, interval 5 'te lokalizedir. Bölgenin uzunluğu 1–3 Mb arasındadır. Y kromozomunun AZFa bölgesinde yer alan genler spermatogenezde rol oynarlar. AZFa bölgesinin parsiyel delesyonları hipospermatogenez ile sonuçlanmaktadır. Komplet delesyonları ise seminifer tubüllerde germ hücre üretimi ve olgunlaşmasını inhibe eder. Bu durumda TESE (Testicular Sperm Extraction) ile olgun sperm elde edilebildiğini bildiren bir çalışma henüz literatürde yoktur. AZFa delesyonlu hastalardan alınan testis biyopsilerinde Sertoli Cell Only (SCO) sendromu görülür. Ayrıca USP9Y ve DBY genlerinin delesyonlarının ise değişken testiküler fenotiple bağlantılı olduğu bildirilmiştir (11–14).

AZFb bölgesi Yq'da interval 5 ve interval 6 arasında yer alır. Bu bölge birkaç sıralı gen kopyasının yanısıra çok kopyalı gen aileleri de içerir. AZFb bölgesinde yer alan önemli genler arasında RBM (RNA binding motif), CDY (Chromo-

domain Y), XKRY (XK Related Y), EIF1AY (eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked), RPS4Y2 (Ribosomal protein S4 Y isoform 2) ve SMCY (Selected Mouse cDNA on the Y) sayılabilir. RBM, SMCY ve XKRY genleri Y kromozomunun uzun kolunda pek çok kopyaya sahiptir (15,16). Otuzdan fazla RBM ve pseudogenleri Y kromozomunun her iki kolunda da bulunmaktadır. Bu genler RBM ve SRGY tekrarının 4 kopyasını içeren germ hücre spesifik nükleer proteinler içerirler. RBMY1A1 (RNA binding motif protein, Y-linked, family 1, member A1) geni RBM gen ailesinin bir üyesidir ve erkek germ hücrelerinden eksprese olur (17). Bu gen mRNA saklanması ve spermatogenez sırasında nükleustan taşınmasıyla ilişkilidir. Ayrıca, RBMY1A1 geninin değişiklikleri AZFb mikrodelesyonu fenotipte önemli rol oynar (18). AZFb bölgesi delesyonlarına sahip hastalarda AZFa delesyonlarının aksine normal spermatogonyum ve primer spermatozoid oluşumu vardır. Ancak pre-mayotik spermatogenez duraklama ya da SCO sonucunda azospermisi görülür. Bu nedenle AZFb delesyonlu hastalarda da TESE önerilmemektedir (19).

AZF bölgeleri arasında delesyonlar en sık AZFc bölgesinde görülmekte ve bunun sonucu olarak hipospermatogenez meydana gelmektedir. AZFc bölgesi delesyonları nonobstrüktif azospermili erkeklerde yaklaşık %12 iken, ciddi oligospermisi (sperm sayısı 5 milyondan az) olan erkeklerde ise yaklaşık %6 oranında görülmektedir (20). AZFc Yq'nun distalinde lokalize olmuştur ve delesyonları 6C ile 6E subintervalinde meydana gelir. Bu bölgede lokalize olan 8 ayrı gen ailesi bulunmaktadır. Bunlar; DAZ

(Deleted in azoospermia), BPY2 (Testis-specific basic protein Y 2), CDY (Testis-specific chromodomain protein Y), CSPG4LY(chondroitin sulfate proteoglycan 4-like, Y-linked pseudogene 1), GOLGAZLY (Golgi autoantigen, golgi sub-family a2-like, Y-linked 1), TTY3.1 (Testis-Specific Transcript, Y-Linked 3), TTY4.1 ve TTY7.1'dir. Bu genlerden ilk beş tanesi spermatogenezde temel olan proteinleri kodlarlar. DAZ gen ailesi 4, BPY2 gen ailesi 3 ve CDY gen ailesi ise 2 kopyadan oluşur (21–25). Son yıllarda yapılan çalışmalar Y kromozomunun intrakromozomal rekombinasyonlarından kaynaklanan ve gr/gr, b1/b3, b2/b3 olarak adlandırılan AZFc subdelesyonlarının bulunduğunu göstermiştir (25–27) (Şekil 2). İnfertil erkeklerde en sık olarak gr/gr delesyonları %2.1–%12.5 oranında görülmektedir. Gr/gr delesyonlarında DAZ (DAZ1/DAZ2) geninin dört kopyasından ikisinin ve BPY2 geninin üç kopyasından birinin kaybı gözlenir ve bu durum spermatojenik yetmezliğe neden olur. B1/b3 ve b2/b3 delesyonlarında ise DAZ geninde iki kopya BPY2 geninden bir ya da iki kopya bulunur (22–25).

AZFd bölgesi son yıllarda ayrı bir gen bölgesi olarak AZFb ve AZFc bölgeleri arasında yer almaktadır. AZFd delesyonlu hastalar hafif oligospermisi veya normal sperm

sayısı olmasına rağmen anormal sperm morfolojisine sahip olabilirler (28).

Y kromozomu mikrodelesyonlarında genetik danışma

Erkek infertilitesine neden olan Y kromozomundaki mikrodelesyonların tespiti polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile kolaylıkla yapılabilmesine rağmen bu mikrodelesyonları düzeltmeye yönelik bir tedavi henüz bulunmamaktadır. Y kromozom mikrodelesyonlarının tespiti hastaların oligospermi nedeninin anlaşılmasına ve prognozun belirlenmesine imkan vermektedir. Özellikle AZFa ve AZF b mikrodelesyonlu hastalarda ICSI için TESE ile sperm eldesinin mümkün olmadığına bilinmesi açısından oldukça önemlidir. Ayrıca Y kromozom mikrodelesyonu olan hastaların eşlerinde tekrarlayan düşük sayısının arttığı ve çocuklarında öğrenme bozukluğu görülebileceği belirtilmektedir (29). Bütün bu nedenlerden dolayı özellikle şiddetli oligospermi veya azospermisi olan hastalarda ICSI öncesi mutlaka Y kromozom mikrodelesyon analizi yapılmalıdır. Ailelere sahip olacakları erkek çocukların subfertil olabileceği ve bu çocukların cinsel olgunlaşma dönemlerinin takibi önerilmelidir.

Kaynaklar

1. Esteves SC1, Chan P. A systematic review of recent clinical practice guidelines and best practice statements for the evaluation of the infertile male. *Int Urol Nephrol* 2015; 47: 1441–1456.
2. Kamali M, Baghestani AR, Kashfi F, Kashani H, Tava-johi S, Amirchagmaghi E. A survey on infertility in Royan Institute. *Int J Fertil Steril* 2007; 1: 23–26.
3. Gimenes F, Souza RP, Bento JC, Teixeira JJ, Maria-Engler SS, Bonini MG, Consolaro ME. Male infertility: a public health issue caused by sexually transmitted pathogens. *Nat Rev Urol* 2014; 11: 672–87.
4. Brugh VM, 3rd, Lipshultz LI. Male factor infertility: Evaluation and management. *Med Clin North Am* 2004; 88: 367–385.
5. World Health Organization. *WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Male*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
6. M. M. Matzuk, D.J. Lamb, *The biology of infertility: research advances and clinical challenges*, *Nat. Med* 2008; 1197–1213.
7. A. Massart, W. Lissens, H. Tournaye, K. Stouffs, *Genetic causes of spermatogenic failure*, *Asian J. Androl* 2012; 14: 40–48.
8. Lahn BT and Page D. *Functional coherence of the human Y chromosome*. *Science* 1998; 278: 675–680.
9. Seda O, Liska F, Sedova L. *Sex Determination. Multimedia E-textbook of Medical Biology, Genetics and Genomics*. Czech Republic: Institute of Biology and Medical Genetics of the First Faculty of Medicine of Charles University and the General Teaching Hospital; 2005.
10. Tiepolo L and Zuffardi O. *Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm*. *Hum. Genet* 1976; 34: 119–124.
11. M. Simoni, E. Bakker, C. Krausz. *EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y chromosomal microdeletions*. *State of the art* 2004. *Int J Androl* 2004; 27: 240–249.
12. Vogt, P. H., Edelmann, A., Kirsch, S., Henegariu, O., Hirschmann, P., Kiesewetter, F. et al. *Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11*. *Human Molecular Genetics* 1996; 5: 933–943.
13. Krausz, C., Quintana-Murci, L. & McElreavey, K. *Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis?* *Human Reproduction* 2000; 15: 1431–1434.
14. Kamp, C., Huellen, K., Fernandes, S., Sousa, M., Schlegel, P. N., Mielnik, A. et al. *High deletion frequency of the complete AZFa sequence in men with Sertoli-cell-only syndrome*. *Molecular Human Reproduction* 2001; 7: 987–994.
15. Ma K, Inglis JD, Sharkey A, Bickmore WA, Hill RE, Prosser EJ, Speed RM, Thomson EJ. *A Y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: candidates for the azoospermia factor AZF controlling spermatogenesis*. *Cell* 1993; 75: 1287–1295.
16. Prosser J, Inglis JD, Condie A, Ma K, Kerr S, Thakrar R, Taylor K, Cameron JM, Cooke HJ. *Degeneracy in human multi-copy RBM (YRRM), a candidate spermatogenesis gene*. *Mammal. Genome* 1996; 7: 835–842.
17. Elliott DJ, Millar MR, Oghene K, Ross A, Kiesewetter F, Pryor J, McIntyre M, Hargreave TB, Saunders PT, Vogt PH, Chandley AC and Cooke H. *Expression of RBM in the nuclei of human germ cells is dependent on a critical region of the Y chromosome long arm*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 3848–3853.
18. Elliott DJ. *RBM Y genes and AZFb deletions*. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 652–658.
19. Krausz, C., Hoefsloot, L., Simoni, M. & Tuttelmann, F. *EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013*. *Andrology* 2014; 2: 5–19.
20. Foresta, C., Moro, E. & Ferlin, A. *Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis*. *Endocr. Rev* 2001; 22: 226–239.
21. Vogt PH. *AZF deletions and Y chromosomal haplogroups: history and update based on sequence*. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 319–336.
22. Repping S, Skaletsky H, Brown L, van Daalen SK, Korver CM, Pyntikova T, Kuroda-Kawaguchi T, de Vries JW, Oates RD, Silber S et al. *Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome persists through balance between recurrent mutation and haploid selection*. *Nat Genet* 2003; 35: 247–251.

23. Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG et al: The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet* 2001; 29: 279-286.
24. Repping S, van Daalen S, Brown L et al: High mutation rates have driven extensive structural polymorphism among human Y chromosomes. *Nat Genet* 2006; 38: 463-467.
25. Lynch M, Cram DS, Reilly A, et al. The Y chromosome gr/gr subdeletion is associated with male infertility. *Mol Hum Reprod* 2005; 11: 507-512.
26. Shahid M, Dhillon VS, Khalil HS, Sexana A, Husain SA. Associations of Y-chromosome subdeletion gr/gr with the prevalence of Y-chromosome haplogroups in infertile patients. *European Journal of Human Genetics* 2011; 19: 23-29.
27. Lu C, Zhang J, Li Y et al: The b2/b3 subdeletion shows higher risk of spermatogenic failure and higher frequency of complete AZFc deletion than the gr/gr subdeletion in a Chinese population. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 1122-1130.
28. Lahn BT, Pearson NM and Jegalian K. The human Y chromosome, in the light of evolution. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 207-216.
29. Aittomaki K, Wennerholm UB, Bergh C, et al. Safety issues in assisted reproduction technology-Should ICSI patients have genetic testing before treatment? A practical proposition to help patient information. *Hum Reprod* 2004; 19: 472-476.