

Erkek infertilitesinde genetik değerlendirme

Pınar Aslan Koşar, Nurten Özçelik

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta.

Özet

İnfertil vakaların yaklaşık %50'si erkek kökenli bir probleme bağlıdır. Bu derlemede, erkek infertilitesine neden olan genetik faktörler değerlendirilmiştir. Özellikle azospermik ve şiddetli oligospermik hastalarda genetik anormalliklerin sıklığı nedeni ile bu hastalarda genetik değerlendirme gereklidir. İnfertilitenin genetik nedenleri, Y-kromozom mikrolelesyonları, konjenital vaz deferens agenezine neden olan kistik fibrozis gen mutasyonları, sayısal ve yapısal kromozom anomalileri, semptomlarından biri infertilite olan genetik sendromlar şeklinde sınıflandırılabilir. Erkek infertilitesinin genetik sebeplerini anlamak, hem tedavi yaklaşımları hem de onların doğacak bebeklerinin taşıyabileceği riskler hakkında hastaların bilgilendirilmesi açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Erkek infertilitesi, kromozomal anormallikler, Y kromozom mikrolelesyonları

Abstract

Genetic evaluation in the male infertility

An around %50 percent of cases with infertility is due to a male factor problem. In this review, it was evaluated the genetic disorders, that are caused male infertility. Because of frequency of genetic abnormality in patients with azoospermia and severe oligozoospermia, genetic examination is mandatory in these patients. The genetic causes of male infertility can be broken down into Y chromosome microdeletions, mutations in the gene for cystic fibrosis, which are caused congenital vas deferens agenesis, numerical and structural chromosomal aberrations, genetically determined syndromes in which infertility is a symptom. An understanding of the genetic causes of male infertility is quite important for the appropriate counseling of patients about treatment options and risks to their potential offspring.

Key words Male infertility, chromosomal abnormalities, Y chromosome microdeletions

Giriş

İnfertilite vakalarının yarısında, erkek üreme yetmezliği ya da disfonksiyonu rol oynar. Erkek infertilitesine yol açan nedenlerin bir kısmı sonradan olduğu halde, bir kısmı genetik kökenlidir. Özellikle azospermik ve şiddetli oligospermik hastaların etiyojilerinde genetik bozukluklar (hem cinsiyet kromozomlarında hem de otozomal kromozomlarda meydana gelen sayısal ve yapısal bozukluklar) önemli bir yer tutar. Hamileliğin doğal olarak başırlamayacağı çiftlerde günümüzde gelişen intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) gibi yeni teknikler ile sperm faktörüne dayanan infertilitenin üstesinden gelinmektedir. Fakat ICSI'den önce her çiftte, çiftlerde mevcut olan genetik hasarın, mevcut infertilitenin ve diğer değişen fenotipik belirtilerin çocuğa geçme riski için bilgi verilmelidir. Bu nedenle böyle erkeklerde, ICSI işleminden önce özellikle

karyotip analizi ve Y kromozom mikrolelesyonu testleri yapılmalıdır.

Semen örneği incelendiğinde sperm içermiyorsa, azospermik olduğu düşünülür. Azospermik hastalar obstruktif ve nonobstruktif azospermi olmak üzere iki kategoriye ayrılır (1). Ejekülatta sperm sayısı 5 milyon/ml altında ise şiddetli oligospermik olarak adlandırılır. Her iki gruptaki hastaların normal yoldan çocuk sahibi olmaları zor olduğu için, bu hastalar özellikle ICSI gibi yardımcı üreme teknikleri ile çocuk sahibi olabilirler. Fakat bu işlemle doğacak çocuklara babadaki genetik hastalık aynen aktarılacaktır.

Azoospermi ve şiddetli oligospermi ile birlikte görülen genetik bozukluklar sperm yapımını bozarak ya da spermin taşınmasını engelleyerek erkekte infertiliteye neden olabilir. Erkek infertilitesi ile ilgili dört genetik faktör bilinmektedir. 1- İzole spermatogenez defekti yapabilen Y-kromozom mikrolelesyonları, 2- Konjenital vaz deferens agenezine neden olan kistik fibrozis gen mutasyonları, 3- Testis fonksiyonlarını bozan kromozom anomalileri, 4- Sperm

Yazışma Adresi: Pınar Aslan Koşar
SDÜ Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Çünür, Isparta
Tel: 02462113285
e-mail: pkosar@med.sdu.edu.tr

fonksiyonlarını direkt olarak etkileyen genetik sendromlar

1- Y-Kromozom Mikrodelesyonları

Azospermik erkeklerin bir kısmında Y kromozomunun uzun kolunda (Yq11) delesyonların saptanması üzerine spermatogenezin bu bölge eden regüle edildiği tahmin edilmiş ve bu bölge azospermi faktör bölgesi (AZF) olarak tanımlanmıştır (2). AZF bölgesindeki genler yalnız spermatogenezle ilgili genlerdir. Bu nedenle bu bölgedeki delesyonlar fenotipik bozukluk yapmadan izole spermatogenez defektine (şiddetli oligospermi ya da azospermiye) neden olur. Bugün Y kromozomunun uzun kolu üzerinde, infertil erkekte delesyona uğradığı ve bunlardan her birinin spermatogenezin farklı aşamalarında etkili olduğu gösterilen AZF a, AZF b ve AZF c olmak üzere en az 3 bölgenin varlığı bilinmektedir (3). Bu bölgelerin delesyonları, AZFa, AZFb ve AZFc delesyonları olarak isimlendirilir. Y kromozom mikrodelesyonları spermatogenetik yetmezliğin en sık görülen sebeplerinden biridir. İdiyopatik azospermide %15-20, idiyopatik oligospermide %7-10 oranında Y kromozom mikrodelesyonlarına rastlanmıştır (4). Bu nedenle nonobstruktif azospermili ya da şiddetli oligospermili hastaların hepsine ICSI işleminden önce Y kromozom mikrodelesyon testi yapılmalıdır. Y mikrodelesyonuna sahip erkeklerin tüm erkek çocukları aynı patolojiye sahip olacağından aile bunu bilerek işleme başlayacaktır.

Y kromozom mikrodelesyonlarını belirlemek için pek çok laboratuvar, STSs denilen Y kromozomunun spesifik işaretlenmiş bölgelerinin çoğaltılması için bir polimeraz zincir reaksiyon ölçümü (PCR) kullanır (5,6). STS genom üzerinde spesifik bir lokus için (Y kromozomu için 300 den fazla vardır) marker olarak fonksiyon gören DNA'nın kısa segmentleridir. Farklı laboratuvarlar farklı STS kullanır. Fakat analiz, putative spermatogenezis genlerini kodladığı düşünülen AZF bölgesi ve diğer özel bölgeleri kapsayan STS'leri her zaman içermelidir. Ölçüm pozitif ve negatif kontrollerle sıra ile normal erkek ve kadın DNA'sı ile yapılmalıdır ve Y kromozomu için özellikle de SRY geni için bir pozitif marker içermelidir. Y kromozom bölgeleri büyütüldükten sonra DNA fragmanları jel elektroforezi boyunca boyutlarına göre ayrılır. Silinen intervaller jel üzerinde band paterninde bir bantta değişiklik meydana gelmesi ya da bantın yok olmasıyla belirlenir.

2- Kromozom Anomalileri

Normal insan somatik hücreleri 22 çift otozom ve 1 çift seks kromozom olmak üzere total 46 kromozomlu diploid hücrelerdir. Erkekler X ve Y olmak üzere 2 farklı seks kromozomuna sahiptir. Kromozom anomalileri normal popülasyonla (%0.5) kıyaslandığı zaman, infertil erkeklerde (%5.8) çok daha yüksektir (7). İnfertil bireylerde seks kromozom anomalileri otozomal kromozom anomalilerinden daha siktir (%4.2'ye karşı %1.5). Bilindiği gibi kromozom anomalileri sayısal ve yapısal anomaliler olmak üzere ikiye ayrılır (8,9). Yapısal kromozom anomalileri delesyon, inversiyon, kromozomun bir kısmının dublikasyonu ya da bir kromozomun bir parçasının diğer kromozoma translokasyonu şeklinde gerçekleşir. Sayısal kromozomal anomaliler tüm kromozomların multipl kopyalarını içeren hücreler poliploid ya da bir ya da daha fazla kromozomun bir ilavesini ya da delesyonunu içeren hücreler anoploid olarak sınıflandırılır. Translokasyonlar normal yenidoğanlara göre infertil erkeklerde 8.5 kat daha fazladır. Benzer şekilde inversiyonlar infertil erkeklerde normal popülasyona göre 8 kat fazla görülür (10).

Sayısal seks kromozom bozukluğu, erkek infertilitesi vakalarında sık görülen bir durumdur. Klinifelter sendromu, miks gonadal disgenezi ve XYY erkekler bu grup hastalardır. Klinifelter sendromu en sık gözlenen seks kromozom bozukluğudur ve infertil vakalarda 30 kat fazla rastlanır. Azospermik vakalarda ise %14 oranında rastlanır.

ICSI'den sonraki hamileliklerde otozomal trizomi ve seks kromozom anoploidileri daha yüksek görülür. Bu nedenle ICSI işleminden önce hastalarda sayısal veya yapısal bir kromozomal anomalisi saptandığında, genetik danışma ve preimplantasyon genetik teşhis, prenatal genetik teşhis için amniosentez veya koryon villus örnekleme önerilmelidir. Kromozom analizi konvensiyonel yöntemlerle yapılır. Heparinize periferik kan lenfositlerinden 72 saatlik kültür ile metafaz kromozomları elde edilir. Başta giemsa bantlama (GTG) olmak üzere uygun bantlama yöntemleri ile metafaz kromozomları değerlendirilir.

3- Konjenital Vaz Deferens Agenezisine Neden Olan Kistik Fibrozis Gen Mutasyonları

Kistik fibrozis otozomal resesif geçişli konjenital bir rahatsızlıktır. Kistik fibrozis, kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) genindeki mutasyonlara bağlı gelişir (11). CFTR geni, iyon kanalı olarak fonksiyon gören bir membran proteinini

kodlar ve ejakülatör kanal, seminal vezikül, vas deferens ve epididimisin distal 2/3'ünün oluşumunu da etkiler. Bu nedenle CFTR genindeki mutasyon vaz deferens agenezisi ile sonuçlanır. Azoospermik olguların %1.4'ünü oluşturan konjenital vaz deferens agenezili hastaların %85'inde kistik fibrozis (CF) gen mutasyonu tanımlanmıştır (12). Şimdiye kadar, 1000'in üzerinde farklı mutasyon ve sayısız polimorfizm kistik fibrozisli ya da bilateral vaz deferens agenezili (BVDA) hastalarda belirlenmiştir. F508 en sıklıkla belirlenen mutasyondur ve kistik fibrozisli hastaların en az %50'sinde bulunur (13). Bazı CFTR mutasyonları da konjenital unilateral vaz deferens yokluğu ile ilgilidir (14).

BVDA, kistik fibrozisten daha hafif fenotipik özelliklere sahip olmasına rağmen her iki rahatsızlık da CFTR proteininde ki bir anormallikten kaynaklanır. Bu grup hastalar ICSI ile çocuk sahibi olmak istediklerinde, kistik fibroz ya da BVDA'nın çocuğa geçme riski tedavi öncesi belirlenmelidir. Kistik fibroz için mutasyon analizleri, ebeveynlerin bebeğe kistik fibrozisi ya da BVDA'ni geçirme riskini belirlemek için her iki partnere birden yapılmalıdır. Ayrıca bugün preimplantasyon genetik çalışmalar ile embriyo kistik fibroz ya da BVDA açısından değerlendirilebilmektedir.

Hastanın periferik kan lökositlerinden ekstrakte edilen genomik DNA'da ki ilgili gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak tek nükleotid konformasyon polimorfizmi (SSCP) ile analiz edilerek CFTR için aday gen mutasyonları açısından değerlendirilir (15).

4- SPERM FONKSİYONLARINI DİREKT OLARAK ETKİLEYEN GENETİK SENDROMLAR

Primer Silier Diskinezi

Siliyal hücrelerin aksonemlerine ait bazı defektleri içeren birçok sendrom tanımlanmıştır. Kartagener ve Usher sendromları bu konudaki iyi örneklerdir (16). Kartagener sendromu otozomal resesif bir hastalık olup kronik sinüzit, bronşektazi, retinitis pigmentosa ve sağırılık ile karakterizedir. Semen analizinde normospermiye rağmen motilite ya yetersiz ya da tamamen yoktur. Bu hastalık spermatogenezi bozmamasına rağmen immotil sperm oluşumuna yol açar. Fertilite ICSI ile sağlanabilir.

Otozomal resesif bir hastalık olmasına rağmen X'e bağlı dominant kalıtımda bildirilmiştir. Genetik defekt dynein genindeki mutasyon ya da delesyondan

kaynaklanır. Hastalık floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği ile belirlenir. Normal silier fonksiyon için gerekli genin FISH analizi ile 14q 23'de lokalize olduğu bildirilmiştir (16).

Usher sendromu retinal fotoreseptörler ve odyovestibüler organlardaki silier defekte bağlı olarak retinitis pigmentosa ve sağırılık ile birlikte görülür. Sperm motilitesindeki bozukluk infertiliteye neden olmaktadır (17).

Myotonik Distrofi ve Noonan Sendromu Otozomal dominant olarak kalıttır. Myotonik distrofi adult dönemde başlayan kas zayıflığı ve atrofisi, katarakt ve endokrinopatilerle beraber seyreden bir hastalıktır. Hastalık 19. kromozom üzerinde serintreonin kinaz proteinini kodlayan bir gendeki CTG trinükleotid tekrarı ile oluşur (18). Noonan sendromunda fasial dismorfizm, kısa boy, kardiyak problemler gözlenir. Myotonik distrofi sperm kapasitasyonunda defekte ve akrozom kaybına yol açar. Noonan sendromu ise kriptomorfizm sebepleri olarak infertiliteye neden olur. Bu sendrom ile ilişkili farklı kromozomlara ait delesyonlar bildirilmekle beraber henüz aday bir gen ortaya konulamamıştır.

Orak Hücre Anemisi

Hemoglobinopatilerin en tipik ve en sık görüleni -globin zincirini kodlayan gendeki mutasyon sonucu gelişen orak hemoglobindir. Otozomal resesif geçiş gösteren ve 11. kromozomda lokalize olan genin, zincirinin 6. pozisyonunda bulunan glutamin aminoasidinin yerine valin aminoasidinin gelmesi ile rahatsızlık oluşur. Testiküler disfonksiyon, hipotalamik-hipofizer defektler ve çok sayıda kan fransfüzyonuna bağlı olarak gonadlarda demir depozisyonu sonucu hastalık oluşmaktadır (19).

Genetik Endokrinopatiler

Hormonlar, büyüme faktörleri ve onların reseptörleri ve diğer ilgili sinyal transdüksiyon proteinleri mutasyona uğrayabilir ve hipotalamik pitüiter gonadal aksı etkileyebilir. Bu rahatsızlıklar nadirdir fakat şiddetli erkek infertilite bozukluğu yapabilirler. Rahatsızlıklar genellikle, seksüel gelişme ve fonksiyonun endokrin ya da humoral regülasyonunda yer alan spesifik genler içinde meydana gelen mutasyonlar, küçük delesyonlar ya da polimorfik genişlemelerden kaynaklanır. A-GnRH'nin üretim veya sekresyon bozuklukları

GnRH'nin anormal salınımı ve sentezi ve GnRH'nin salınımını takiben FSH ve LH'da anatomik bir sebep olmaksızın oluşan düşük düzeyde salınım sonucunda

oluşan bozukluklar idiopatik hipogonadotropik hipogonadizm (IHH) olarak ifade edilir. Gonadotropinler normal düzeylerde değilse androjen üretimi ve spermatogenezis yetersizdir. a-Kallman Sendromu

Erkek infertilitesinde en sık rastlanılan X'e bağlı kalıtım gösteren bir bozukluktur. Aynı zamanda IHH'nin bir sebebi olarak bilinir. X kromozomunun uzun kolunda lokalize olan Ka1 (Xp22.3) genindeki bir mutasyon hipotalamustan GnRH sekresyonunda bozulmaya sebep olur. Kallman sendromlu pek çok hasta uzun boylu ve azospermik olup pubertal gecikme gösterirler. Hastalar konjenital sağırığa, kraniyum ve yüz asimetrisine, yarık damak, serebellar disfonksiyon, kriptorşidizm ve renal anomalilere de sahip olabilir. Kallman sendromlu pek çok hastada fertilizasyon hormon replasman tedavisi (hCG ve FSH) sonucunda başarılıdır (20).

b-Prader-Willi Sendromu

Obezite, kriptorşidizm, hafif ya da orta mental gerilik ve IHH ile karakterizedir. Kromozom 15'in kısa kolundaki mutasyon ya da delesyon (15q11q13) hastanın babasından geçer ya da daha az sıklıkla bu lokusun 2 kromozomal kopyası hastanın annesinden geçer. Tedavi FSH ve hCG'nin replasmanı ile yapılır (6).

B-LH ve FSH Fonksiyon bozuklukları

Bu hormonlar hipofizden salgılır. Biyolojik olarak inaktif LH üretimine neden olan mutasyonlar başta virilizasyon bozukluğuna neden olur. LH reseptör mutasyonları ise psödopuberte prekoksya ve psödohermafroditizme sebep olabilir. FSH ya da FSH reseptör mutasyonları daha az gözlenir. C-Androjen Sentez ve Fonksiyon Bozuklukları Androjen sentezinde yer alan enzimlerin mutasyonları infertiliteye neden olur. Kolesterolde testesteron sentezi için 5 enzim gereklidir. Sentezde gerekli olan ilk üç enzimin disfonksiyonuna neden olan mutasyonlar konjenital adrenal hiperplaziye sebep olur. Bu hastalarda kortikosteroid, minerelokortikoid ve androjen sentezi bozuktur. Virilizasyon bozukluğu ve infertilite gözlenir. Son iki enzimin mutasyonları ise psödohermafroditizme ya da kriptorşid testisle beraber feminize genital görünümüne neden olur. Testesteronun dehidrotestesterona dönüşümünü sağlayan 5 alfa redüktaz enzimindeki defektlere yol açan mutasyonlar eksternal genital gelişimini bozar. Sperm salınım bozukluğu vardır. Yine androjen reseptör gen defektleride başta virilizasyon bozukluğuna neden olan diğer bir infertilite sebebidir. Bu sendromlara androjen insensitivite sendromları

denir.

Erkek infertilitesine sebep olan endokrinopatiler için testler: testesteron, LH, FSH, prolaktin, ve östradiol ölçümü ile değerlendirilir. Çok az laboratuvar androjen gen mutasyonlarını ölçebilir. Kallman sendromundan şüphelenilen erkekler Ka1 mutasyonları için değerlendirilmelidir.

SONUÇ

Erkek fertilitésinin pek çok özelliği genetik tarafından etkilenir. İnsan erkek infertilitesinin moleküler genetik temeli hakkında daha anlamadığımız çok şey vardır. İnsanlardaki genetik rahatsızlıklar spermatogeneziste bozulma, sperm fonksiyonunda bozulma ya da sperm taşınmasında bozulmaya neden olarak infertiliteye yol açmaktadır. Erkek infertilitesinin genetik nedenlerinin ortaya konulması tedavi yaklaşımları ve onların doğacak çocuklarına taşınma risklerini ortaya koymayı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- 1-Kadıoğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman MÖ, Usta MF, Kendirci M. Erkek reproduktif sistem hastalıkları ve tedavisi, 2004;232-237.
- 2-Tiepolo ve Zuffardi. Localization of factor controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. Hum Genet, 1976;34: 119-24.
- 3-Kent-First M, Muallem A, Shultz j. Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y chromosome microdeletion detection. Molec Reprodand Develop, 1999; 53: 27-41.
- 4-Affara NA, Mitchell MJ. The role of human and mouse y chromosome genes in male infertility. J Endocrinol Invest, 2000; 23: 630-645.
- 5-Lamb DJ. Debate: Is ICSI a genetic time bomb? Yes. J Androl,2003; 20:23-27.
- 6-Shah K, Sivapalan G, Gibbons N, Tempes H, Griffin DK. The genetic basis of infertility. Reproduction, 2003;126:13-25.
- 7-Düzcan F, Atmaca M, Özcan ÇG, Bağcı H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. Acto Obstet Gynecol Scand, 2003;82: 53-56.
- 8-Stansfield W.D. Theory and problems of genetics.Schum's outline series. McGraw-Hill, New York, 1958; 43-48.
- 9-Johnson MD. Genetic risks of İCSI in the treatment of male infertility. Recommendations for genetic counseling and screening. Fertil Steril, 1998;70: 397-411.

- 10-Van Asche E, Boundella M, Tournaye H. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod*, 1996;11 (Supp4): 1-24.
- 11-Hargreave T. Genetic basis of male infertility. *B Med Bul*, 2000;3: 650-71.
- 12-Quinzii C, Castellani C. The cystic fibrosis transmembrane regulator gene and male infertility. *J Endocrinol invest*, 2000; 23: 684-90.
- 13-Mc callum T, Milunsky J, Munariz R, Carson R, Sadeghi- Nejad H, Oates R. Unilateral renal agenesis associated with congenital bilateral absence of the vas deferens: phenotypic findings and genetic considerations. *Hum Reprod*, 2001;16:282-86.
- 14-Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med*, 1995;332:1475-80.
- 15- Bertuzzo CS, Pinto Jr W. Molecular screening of CFTR gene in Brazilian men with bilateral agenesis of the vas deferens. *Human Fertil*, 2006;9: 53-56.
- 16-Rutland J, de long RU. Random ciliary orientation. A cause of respiratory tract disease. *N Engl J Med*, 1990;323: 1681-87.
- 17-Özdiler E, Aydos K. *Klinik Androloji*. Ankara, 2000;71-101.
- 18-Elsawi MM, Pryor Jp, Klufio G, Barnes J, Patton MA. Genital TRact function in men with Noonan syndrome. *J Med Genet*,1994;31: 468-72.
- 19-Osegbe DN, Akiyanju OO. Testicular dysfunction in men with sickle cell disease. *Postgrad Med J*, 1987;63: 95-100.
- 20-Bick D, Franco B, Sherins RJ, Heye B, Pike L, Crawford J. Brief report: intragenic deletion of the KALIG-1 gene in Kallmann's syndrome. *N Engl J Med*, 1992;326: 1752-53.