

TINJAUAN PUSTAKA

Azoospermia: Suatu Tinjauan Genomik**Manggiasih D. Larasati¹, Silvia W. Lestari^{2*}****¹Program Studi Magister Biomedik, FK Universitas Indonesia****²Departmen Biologi Kedokteran, FK Universitas Indonesia**

Corresponding author: silvia.lestari@ui.ac.id

Diterima 29 November 2016 ; Disetujui 6 September 2017

DOI : 10.23886/ejki.5.6622

Abstrak

Azoospermia atau tidak adanya sperma pada semen merupakan salah satu bentuk gangguan sperma yang mengakibatkan infertilitas laki-laki. Azoospermia ada dua tipe yaitu azoospermia yang disebabkan oleh sumbatan pada vas deferens (azoospermia obstruktif) dan azoospermia yang disebabkan oleh kerusakan pada testis (azoospermia non obstruktif). Faktor penyebab azoospermia bisa genetik ataupun non genetik. Faktor genetik dapat terjadi secara genomik mulai dari tingkat kromosom hingga gen ataupun single nucleotide polymorphism (SNPs). Pada tingkat kromosom, terdapat sindrom Klinefelter (47,XXY) hingga mikrodelsi kromosom Y, sedangkan pada tingkat gen terdapat mutasi gen *jsd*, *Bmp8b* dan lainnya. Pada tingkat SNPs, Genome Wide SNP Association Study (GWAS) telah menemukan 20 SNPs yang berkaitan secara signifikan dengan azoospermia. Pengetahuan yang luas tentang tinjauan genomik pada infertilitas laki-laki, diharapkan dapat memajukan perkembangan pemeriksaan dan tata laksana azoospermia.

Kata kunci: infertilitas laki-laki; azoospermia; faktor genetik; genomik.

Azoospermia: A Genomic Review**Abstract**

Azoospermia or the absence of sperm in semen is one of the sperm disorders that results in male infertility. There are two types of azoospermia, the first one is azoospermia caused by obstruction of the vas deferens (obstructive azoospermia) and the second one is azoospermia due to the damage of testes (non-obstructive azoospermia). The etiology of azoospermia could be genetic or non-genetic. Genetic factors may occur in genomics starting from chromosome until gene level or single nucleotide polymorphism (SNPs). At the chromosome level, there is Klinefelter's syndrome (47, XXY) to the Y chromosome microdeletion, whereas at the gene level there is mutation of *jsd*, *Bmp8b* and other genes. At the level of SNPs, Genome Wide SNP Association Study (GWAS) had uncovered 20 SNPs which were related significantly to azoospermia. Extensive knowledge of genomics review on male infertility, is expected to promote the development of investigation and management of azoospermia.

Keyword : male infertility; azoospermi; genetic factor; genomic.

Pendahuluan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh World Health Organization (WHO), terdapat 11-15% pasangan sulit memiliki keturunan disebabkan oleh faktor infertilitas dari suami.¹ Kegagalan pasangan suami istri (pasutri) dalam memperoleh keturunan sebesar 40% berasal dari perempuan, 40% dari laki-laki, dan sisanya 20% dari keduanya.²

Infertilitas laki-laki dapat dideteksi dengan pemeriksaan analisis semen, hormon dan biopsi testis. Dari analisis semen, dapat diketahui bagaimana jumlah, motilitas, dan morfologi sperma. Hasil ini kemudian dicocokkan dengan hasil analisis hormon dan jika diperlukan dilakukan biopsi testis.

Gangguan pada sperma dapat berupa kuantitas (jumlah sperma) maupun kualitas (motilitas dan morfologi sperma). Hampir 50% kasus infertilitas laki-laki disebabkan oleh rendahnya jumlah sperma (oligozoospermia), gangguan motilitas sperma (astenozoospermia), morfologi sperma abnormal (teratozoospermia) dan tidak adanya sperma (azoospermia).³

Azoospermia adalah tidak ditemukan adanya sel sperma dalam semen yang diejakulasikan laki-laki.⁴ Penyebabnya bisa bermacam-macam, namun secara umum dapat dibagi 2 (dua), yaitu adanya kerusakan pada testis sehingga testis gagal memproduksi sperma (azoospermia non obstruktif) dan penyumbatan pada vas deferens sehingga sperma tidak bisa keluar dan bercampur dengan semen (azoospermia obstruktif).¹

Belum banyak diketahui secara luas bahwa genetik dapat menjadi faktor penyebab infertilitas pada laki-laki, sehingga pemeriksaan bahkan tata laksana penyebab genetik masih sangat terbatas. Azoospermia secara genetik atau berdasarkan analisis genomik dapat terjadi pada tingkat kromosom hingga gen. Pada tingkat kromosom, terdapat sindrom Klinefelter (47,XXY) dan mikrodelesi kromosom Y, sedangkan pada tingkat gen terdapat mutasi gen *jsd*, *Bmp8b* dan lainnya.

Gangguan Kromosom

Gangguan kromosom bisa diartikan sebagai kehilangan, kelebihan, atau pembagian materi genetik yang abnormal pada tingkat kromosom. Gangguan ini dibagi menjadi abnormalitas numerikal dan struktural. Gangguan kromosom yang struktural bisa muncul sebagai kelainan kromosom yang tunggal (delesis, duplikasi dan inversi) atau multipel (translokasi). Kerusakan seringkali muncul selama proses meiosis, dan menjadi lebih sering

ditemukan sebagai faktor penyebab infertilitas laki-laki (15% azoospermia dan 5% oligozoospermia).⁵

Sindrom Klinefelter

Sindrom Klinefelter merupakan kelainan genetik dengan gangguan kromosom yang paling sering ditemukan, terhitung sekitar 14% dari keseluruhan kasus.⁶ Gejalanya dikenal dengan trias klinik yaitu testis yang kecil, azoospermia dan disertai dengan ginekomastia. Fenotipnya bervariasi mulai dari laki-laki normal, laki-laki dengan virilisasi, sampai pada laki-laki dengan defisiensi androgen. Gambaran histologi testis memperlihatkan hialinisasi tubulus seminiferus dengan hiperplasia sel Leydig. Sekitar 90% dari laki-laki mempunyai bentuk klasik dengan genotip 47,XXY; sisanya (10%) mosaik, dengan kombinasi kromosom XXY/XY. Ekstra kromosom X kemungkinan berasal dari meiosis I paternal (50% kasus), atau pada meiosis I atau II maternal (40% dari kasus), dan memiliki hubungan dengan usia ibu.²

Sindrom Kallman

Selain sindrom Klinefelter, sindrom ke-2 yang erat kaitannya dengan azoospermia adalah sindrom Kallman. Gejala sindrom Kallman terdiri atas hipogonadisme hipogonadotropin kongenital, disertai dengan anosmia. Gennya disebut KAL yang menyandi suatu protein yaitu anosmin-1, yang berperan dalam migrasi dari neuron GnRH dan saraf olfaktorius ke hipotalamus. Bila terjadi kegagalan migrasi neuronal, maka hipotalamus dan hipofisis anterior tidak dapat merangsang testis, sehingga terjadi hambatan perkembangan pubertas dan atrofi testis (<2ml). Manifestasi klinis sindrom ini tergantung pada derajat hipogonadisme dan pada beberapa kasus, sindrom hanya sebatas kondisi subfertil. Analisis biopsi testis dapat menggambarkan seberapa luas aplasia sel germinal untuk pembentukan spermatogenesis. Penderita Sindrom Kallman pernah dilaporkan dengan gambaran pedigree *X-linked*, autosomal dominan dan resesif. Bentuk autosomal dominan yakni KAL2 pada 8p12 (*FGFR1*, *fibroblast growth factor receptor-1*) dan autosomal resesif yakni KAL3 juga berhubungan dengan gejala non reproduksi, seperti *cleft palate*, *mirror movements* dan *dental agenesis*. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa mutasi pada sikuens yang menyandi gen KAL1 muncul pada kasus minoritas sindrom Kallman, sementara kasus mayoritas diduga sporadis yang disebabkan oleh kelainan, paling tidak pada dua gen autosomal tersebut di atas.^{2, 7} Mutasi pada gen-gen yang telah disebutkan di atas dilaporkan

hanya ditemui pada 30% kasus sindrom kallmann saja, hal ini menunjukkan masih terdapat gen-gen lain yang harus diteliti lebih lanjut.⁸

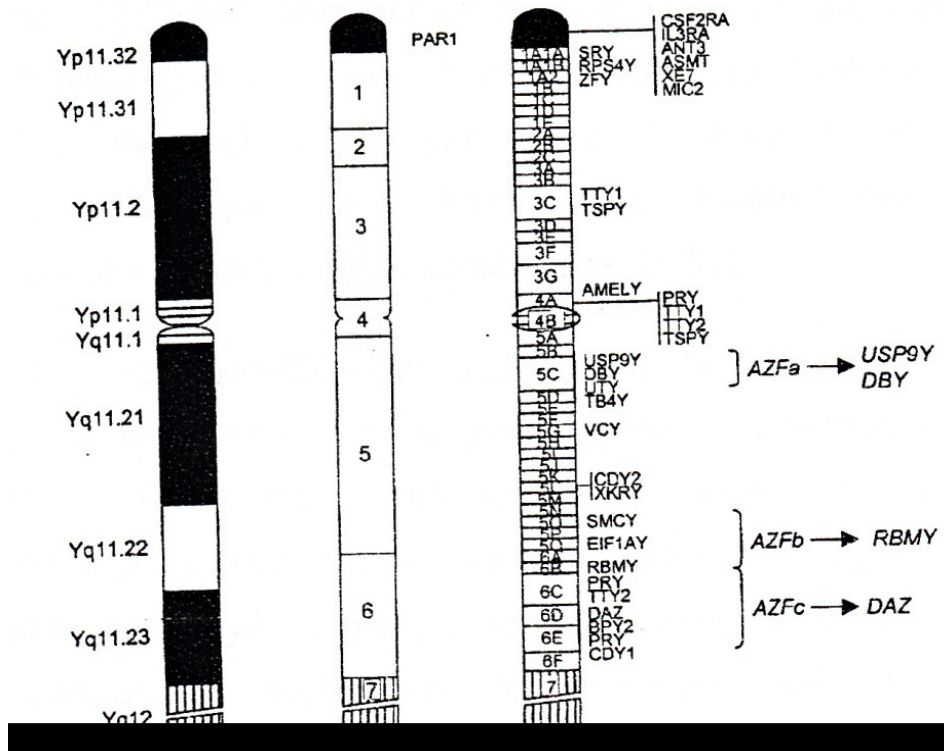
Mikrodelesi Kromosom Y

Masalah infertilitas laki-laki sering terjadi karena adanya gangguan pada kromosom Y. Struktur kromosom Y mempunyai *Pseudo Autosomal Region* (PAR) pada kedua ujung lengannya. PAR1 terletak di ujung lengan pendek (Yp) dan PAR2 di ujung lengan panjang (Yq). PAR berfungsi untuk berpasangan dengan kromosom X pada waktu meiosis. Selain PAR, terdapat juga bagian yang disebut *Nonrecombining Region of The Y Chromosome* (NRY), yang memiliki bagian penting yaitu Gen *Sex Determining Region* (SRY) dan Gen *Azoospermic Factor* (AZF).

Gen SRY menentukan inisiasi perkembangan testis pada masa embrio, terletak di Yp dan berbatasan dengan PAR1. Gen AZF adalah gen yang terletak pada kromosom Y lengan panjang regio 1 band 1 (Yq11). Gen ini memiliki 3 subregio atau daerah (Gambar 1) yang dipetakan yaitu AZFa (proksimal), AZFb (sentral), AZFc (distal). Gen AZF berfungsi untuk mengatur spermatogenesis. Gen AZF terletak di zona eukromatik Yq dan mengalami delesi *de novo* yang tidak tampak pada tingkat sitogenetik (mikrodelesi) pada penderita azoospermia.⁹

Mikrodelesi yang paling banyak adalah daerah AZFc (60%), diikuti oleh AZFb 16% dan AZFa 5%.¹⁰ Delesi pada daerah AZFa, sekitar 792 kb yang mencakup gen DFFRY dan DBY yang menyebabkan *Sertoli cells only syndrome* (SCOS) dan azoospermia. Daerah AZFb mempunyai gen tunggal EIF1AY dan RBMY, tetapi belum banyak laporannya. Selain gen-gen di AZFa dan AZFb, gen DAZ di AZFc dilaporkan yang paling banyak mengalami delesi. Delesi gen DAZ menyebabkan penurunan bertingkat produksi sperma yang matang, tetapi tidak mengganggu proses pematangan sperma.

Delesi yang melibatkan dua atau tiga lokus AZF, menyebabkan gangguan spermatogenik lebih berat dibandingkan dengan delesi yang terjadi pada satu lokus. Seringkali laki-laki infertil yang mengalami delesi lebih dari dua lokus, menderita SCOS tipe I dengan analisis semen berupa azoospermia.¹¹ Mikrodelesi kromosom Y merupakan salah satu penyebab infertilitas laki-laki yang dapat diturunkan kepada anak laki-laki, oleh karena itu pemeriksaan mikrodelesi kromosom Y telah dimasukkan bersama-sama dengan tes sitogenetika dalam prosedur diagnostik, mengingat fakta bahwa mikrodelesi ditransmisikan ke keturunan laki-laki.^{12, 13}



Gambar 1. Struktur Kromosom Y dan Daerah AZF⁹

Mutasi Gen

Selain kelainan kromosom, terdapat pula daftar sejumlah lokus autosomal dan gen yang ketika dihapus dapat menyebabkan infertilitas, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1, diantaranya *juvenile spermatogonial depletion* (jsd). Mutasi pada gen jsd muncul secara alami atau telah diinduksi oleh rekombinasi homolog ('*knock out*').⁶ Mutasi gen jsd, dilaporkan pada tahun 1988 oleh Beamer dkk, yang menetapkan lokus pada hewan

mutan, yang dapat memengaruhi proliferasi sel spermatogonium post natal.¹⁴ Fenotip dari hewan tersebut akan terlihat hanya setelah pubertas, ketika satu siklus spermatogenesis normal terjadi. Setelah itu, sperma matur tidak diproduksi lagi. Analisis histologi dari tubulus seminiferus pada hewan usia 9 minggu post pubertas menunjukkan tubulus seminiferus tanpa spermatogenesis, berdiameter kecil dan berisi sel sertoli dan spermatogonium tipe A.¹⁵

Tabel 1. Lokus Autosom dan Gen yang Terdelesi sehingga Menyebabkan Infertilitas¹⁵

Gen/Lokus	Fenotip Mutan
jsd (<i>Juvenile spermatogonial depletion</i>)	Satu siklus spermatogenesis diikuti dengan kegagalan sel punca untuk me-repopulasi testis
Bmp8b (<i>Bone morphogenetic protein</i>)	Kegagalan/pengurangan dalam proliferasi sel germinal dan peningkatan apoptosis spermatosit
Dazla (Homolog DAZ manusia pada mencit)	Penurunan perkembangan dan ketahanan hidup sel germinal
Rxr β (Retinoid X reseptor β)	Oligo-asteno-teratozoospermia
Pms2 (<i>DNA mismatch repair</i>)	Sinapsis kromosom yang abnormal dan produksi sebagian sperma dengan morfologi yang abnormal
Mlh1 (<i>DNA mismatch repair</i>)	Perkembangan yang terhenti pada tahap pakiten

Pada tahun 1996, Zhao et al¹⁶ melaporkan bahwa generasi tikus dengan mutasi yang ditargetkan dalam *bone morphogenetic protein 8B* (*Bmp8b*) mengakibatkan defisiensi sel germinal laki-laki dan infertilitas. *BMPs* merupakan superfamili *transforming growth factor- β* dari molekul sinyal yang disekresikan. Beberapa *BMPs* telah berhasil diidentifikasi, dengan beragam fungsi terutama dalam regulasi perkembangan embrio. *Bmp8b* diekspresikan dalam plasenta selama embriogenesis dan di sel germinal laki-laki selama perkembangan post natal. Ekspresi *Bmp8b* pada post natal dini terlihat pada spermatogonium dan spermatosit primer. Setelah berusia 3,5 minggu, *Bmp8b* diekspresikan secara spesifik di sekitar spermatid. Pada *Bmp8b* homozigot tikus mutan, dua kelainan testis tampak jelas secara spesifik: pertama mempengaruhi proliferasi sel germinal, dan yang kedua mempengaruhi kelangsungan hidup spermatosit pada fase pakiten. Hewan jantan mutan homozigot memiliki testis lebih kecil dan sebagian mengalami deplesi sel germinal hampir lengkap. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa *Bmp8b* diperlukan untuk mitosis proliferasi normal dan diferensiasi sel germinal serta untuk kelangsungan hidup spermatosit pakiten.

Tidak bisa dipungkiri bahwa kontribusi homolog manusia dari gen ini berperan sebagai kontrol spermatogenesis.¹⁵

Polimorfisme

Polimorfisme adalah variasi dalam urutan DNA, salah satunya berupa *Single-Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) yang dalam banyak kasus tidak menimbulkan suatu penyakit. Analisis dari polimorfisme dalam gen yang terlibat pada spermatogenesis merupakan bidang penelitian dalam studi genetika infertilitas laki-laki. Polimorfisme atau variasi genetik merupakan faktor risiko yang dapat memengaruhi mutasi spermatogenesis.⁷ Banyak variasi polimorfisme dalam hubungannya dengan infertilitas laki-laki. *Genome-Wide Association Study* (GWAS) telah menemukan 20 SNPs yang secara signifikan berkaitan dengan azoospermia atau oligozoospermia.¹⁷ *Genome-wide study of single-nucleotide polymorphisms associated* (Electronic Penelitian lain juga membandingkan antara azoospermia dan kontrol, yang menunjukkan sekitar 18 SNPs yang terbukti berkaitan dengan azoospermia secara signifikan. (Tabel 2).

Tabel 2. Daftar SNPs yang Berkaitan dengan Azoospermia¹⁷

Marker	Krom	Posisi	Komp.	Model	Raw P	FDR	GC-corrected P	Eigenstrat P
rs3105782	3	188453990	A-ON	R	1,43x10 ⁻⁷	,044	1,38x10 ⁻⁶	,76 x 10 ⁻⁶
rs6068020	20	49993059	A-N	D	4,53x10 ⁻⁷	,147	4,53x10 ⁻⁷	6,03 x 10 ⁻⁹
rs10841496	12	20412921	A-N	D	5,34x10 ⁻⁷	,087	5,34x10 ⁻⁷	5,89 x 10 ⁻⁷
rs1399645	2	139864302	A-N	AI	9,46x10 ⁻⁷	,100	1,01x10 ⁻⁶	NA
rs2063802	2	139858918	A-N	AI	9,46x10 ⁻⁷	,100	1,01x10 ⁻⁶	NA
rs4954657	2	139878418	A-N	AI	9,46x10 ⁻⁷	,100	1,01x10 ⁻⁶	NA
rs11707608	3	75588740	A-N	AI	1,21x10 ⁻⁶	,088	1,19x10 ⁻⁶	NA
rs2032278	18	73413025	A-ON	R	1,76x10 ⁻⁶	,265	1,14x10 ⁻⁶	5,30 x 10 ⁻⁷
rs2976084	3	75552183	A-ON	AI	2,43x10 ⁻⁶	,153	3,01x10 ⁻⁶	NA
rs215702	7	32366183	A-ON	R	2,59x10 ⁻⁶	,266	1,61x10 ⁻⁵	1,52 x 10 ⁻⁶
rs10848911	12	3684499	A-N	F	3,70x10 ⁻⁶	,200	3,70x10 ⁻⁶	1,44 x 10 ⁻⁶
rs4541736	6	40797975	A-ON	AI	3,99x10 ⁻⁶	,209	4,89x10 ⁻⁶	NA
rs4695097	4	45049872	A-ON	R	4,67x10 ⁻⁶	,288	2,65x10 ⁻⁵	1,36 x 10 ⁻⁶
rs4343755	4	45064335	A-ON	R	5,91x10 ⁻⁶	,260	3,24x10 ⁻⁵	1,85 x 10 ⁻⁶
rs2290870	4	42271177	A-ON	R	5,92x10 ⁻⁶	,260	3,24x10 ⁻⁵	2,52 x 10 ⁻⁵
rs1545125	7	51118725	A-ON	R	6,44x10 ⁻⁶	,248	3,48x10 ⁻⁵	2,97 x 10 ⁻⁶
rs10841496 ^a	12	20412921	A-N	D	5,34x10 ⁻⁶	,002	5,34x10 ⁻⁷	8,47 x 10 ⁻⁷
rs4484160 ^a	3	71923582	A-ON	AI	1,54x10 ⁻⁵	,061	1,79x10 ⁻⁵	NA

Singkatan: AI= model alel; A-N= azoospermia dibandingkan dengan normozoospermia; A-ON= azoospermia dibandingkan dengan oligozoospermia dan dikombinasikan dengan normozoospermia; D= model dominan; FDR= *false discovery rate*; GC= koreksi genomik; Komp= komparasi/perbandingan; Krom= kromosom; NA= tidak dapat diterapkan; R= model resesif.

^aProbe gen infertilitas laki-laki. Didasarkan pada statistik melalui uji asosiasi pada probe subkelompok fertilitas laki-laki

Seharusnya, pemeriksaan genetik dilakukan setelah diperoleh hasil azoospermia atau bila ada dugaan terdapat kelainan kongenital yang mungkin menyebabkan azoospermia. Hal ini bertujuan untuk mengetahui penyebab lebih lanjut dari azoospermia apakah masih bisa dikoreksi atau tidak, sehingga menentukan kemampuan fertilitas laki-laki tersebut, dapat dilakukan secara alami atau melalui reproduksi berbantu.

Kesimpulan

Azoospermia sebagai salah satu gangguan sperma pada infertilitas laki-laki dapat disebabkan karena faktor genetik dan non genetik. Faktor genetik dapat terjadi secara genomik mulai dari tingkat kromosom yakni 47, XXY Sindrom Klinefelter ataupun Sindrom Kallmann, hingga tingkat gen antara lain mutasi dan mikrodelesis ataupun tingkat SNPs. Pengetahuan luas tentang tinjauan genomik pada infertilitas laki-laki diharapkan dapat memajukan perkembangan pemeriksaan atau bahkan tata laksana penyebab azoospermia.

Daftar Pustaka

- World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 4th ed. New York: Cambridge University Press; 1999.
- Triwani. Faktor genetik sebagai salah satu penyebab infertilitas laki-laki: Universitas Sriwijaya; 2013.
- Utami S. Etiologi infertilitas pada pria akibat dari mutasi DNA mitokondria (mtDNA). J Kedokteran Maranatha. 2009;9(1):85-94.
- Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Molecular screening for Yq microdeletion in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia. J Biosci. 2003;28(3):163-8.
- Eriksson A, Töhönen V, Wedell A, Nordqvist K. Isolation of the human testatin gene and analysis in patients with abnormal gonadal development. Mol Hum Reprod. 2002;8(1):8-15.
- Jha CB, Dhungel S, Rai D. Karyotype revealed 47, xxy chromosome (Klinefelter syndrome): a case report. Nepal Med Coll J. 2007;9(3):215-6.
- Asero P, La Vignera S, Lanzafame F. Genetic aspects of male infertility. JAS. 2010;17:1-16.
- Dodé C, Hardelin JP. Kallmann syndrome. Eur J Hum Genet. 2009;17(2):139-46.
- Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis 1. Endocr Rev. 2001;22(2):226-39.
- Navarro-Costa P, Plancha CE, Gonçalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility? J Biomed Biotechnol. 2010;2010:1-18.(discussion paper)
- Vogt P, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. Hum Mol Genet. 1996;5(7):933-43.
- Suryandari D, Moeloe N, Citrawati M, Sari P, Yurnadi. Analisis mikrodelesis kromosom Y pada pria azoospermia di Indonesia. Makara Kesehatan. 2006;10(1):41-6.

13. Pina-Neto J, Carrara R, Bisinella R, Mazzucatto L, Martins M, Sartoratto E, et al. Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39(4):555-61.
14. Beamer WG, Cunliffe-Beamer TL, Shultz KL, Langley SH, Roderick TH. Juvenile spermatogonial depletion (jsd): a genetic defect of germ cell proliferation of male mice. *Biol Reprod.* 1988;38(4):899-908.
15. Boettger-Tong H. Genes causing azoospermia and oligozoospermia. *Glob libr women's med.* 2008. (jurnal)
16. Zhao G-Q, Hogan BL. Evidence that mouse Bmp8a (Op2) and Bmp8b are duplicated genes that play a role in spermatogenesis and placental development. *Mech Dev.* 1996;57(2):159-68.
17. Aston KI, Carrell DT. Genome-wide study of single-nucleotide polymorphisms associated with azoospermia and severe oligozoospermia. *J Androl.* 2009;30(6):711-25.