

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI

Əlyazması hüququnda

BAKİ ŞƏHƏRİNDƏ YENİDOĞULMUŞLARDA QALAKTOZEMİYA İRSİ MÜBADİLƏ XƏSTƏLİYİNİN DİAQNOSTİKASI, GENETİK HETEROGENLİYİ VƏ TƏSADÜF ETMƏ TEZLİYİNİN ÖYRƏNİLMƏSİ

İxtisas: 2409.01 – Genetika

Elm sahəsi: Biologiya

İddiaçı: **Nilufər Məhəmməd qızı Hacıyeva**

Fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün təqdim edilmiş
dissertasiyanın

AFTOREFERATI

Bakı – 2025

Dissertasiya işi Bakı Dövlət Universitetinin Biologiya fakültəsinin Genetika kafedrasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər: Biologiya elmləri doktoru, professor
Kamilə Əli Ağa qızı Əliyeva

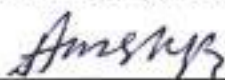
Rəsmi opponentlər: Biologiya elmləri doktoru, professor
Tahirə Ələmşah qızı Əsgərova

Biologiya elmləri doktoru, dosent
Afət Dadaş Şaraplı qızı Məmmədova

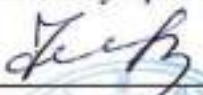
Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Nurməmməd Şamil oğlu Mustafayev

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının AR ETN Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.37 Dissertasiya şurası.

Dissertasiya şurasının sədri:


biologiya elmləri doktoru, dosent
Mehraq Əli oğlu Abbasov

Dissertasiya şurasının elmi katibi:


biologiya üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Səidə Qasım qızı Həsənova

Elmi seminarın sədri:


Biologiya elmləri doktoru, dosent
Hamlet Bəykişi oğlu Sadıqov



GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı və işlənmə dərəcəsi. Qalaktozemiya *GALT* (9p13.3; 4.3 kb; 11 ekzon), *GALK1* (17q25.1; 7.3 kb; 8 ekzon), *GALE* (1p36.11; 5 kb13) və *GALM* (2p22.1; 68 kb; 7 ekzon) genlərinin allel variantları ilə şərtlənən fermentlərin çatışmazlığı nəticəsində yenidoğulmuşların postnatal inkişafının ilk günlərindən maddələr mübadiləsinin pozğunluqları ilə müşayiət olunan autosom-resessiv irsi xəstəlikdir^{1, 2}. Qalaktozanın əsas mənbəyi süd və süd məhsullarında yüksək miqdarda mövcud laktoza disaxaridi olub, laktaza fermentinin təsiri altında bağırsaqda qlükoza və qalaktozaya parçalanır ki, sonradan qalaktoza qana sovrulmaqla qaraciyərdə qlükozaya çevrilir. *GALT* geninin ekspressiya məhsulu olan və mübadilə prosesində açar rolunu oynayan qalaktozo-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin çatışmazlığı zamanı qalaktoza qlükozaya çevrilmir və qalaktoza şəkərinin orqanizm tərəfindən mənimsənilməməsi nəticəsində qanda miqdarının artması beyni zəhərləyir, xəstədə qalaktozemik oliqofreniyaya səbəb olur, gözlərdə katarakta, qaraciyərin hepatomeqaliyası və serrozu, fiziki və zehni inkişafın geriliyi ilə nəticələnir³. Xəstəlik yenidoğulmuşun ilk günlərindən sarılıq, nevroloji simptomatika (qıcolmalar, nistaqm, əzələlərin hipotoniyası), qusma, sonradan isə fiziki, psixi inkişafın geriliyi ilə müşayiət olunur⁴.

Məlumdur ki, mutasiyanın təbiətindən və genin strukturundakı mövqeyindən (tənzimləyici regionda və ekzon daxilində

¹ Kikuchi, A.; Wada, Y.; Ohura, T.; Kure, S. The Discovery of GALM Deficiency (Type IV Galactosemia) and Newborn Screening System for Galactosemia in Japan. *Int. J. Neonatal Screen.* 2021, 7, 68. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

² Iwasawa, S.; Kikuchi, A.; Wada, Y.; Arai-Ichinoi, N.; Sakamoto, O.; Tamiya, G.; Kure, S. The prevalence of GALM mutations that cause galactosemia: A database of functionally evaluated variants. *Mol. Genet. Metab.* 2019, 126, 362–367. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

³ Berry, G.T. Classic Galactosemia and Clinical Variant Galactosemia. In *Gene Reviews*; Adam, M.P., Mirzaa, G.M., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J.H., Gripp, K.W., Amemiya, A., Eds.; University of Washington: Seattle, WA, USA, 2000; pp. 1993–2022. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books> (accessed on 20 May 2022).

⁴ Bosch A.M. Classical galactosaemia revisited. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2006; 29(4): 516–25.

yerləşməsindən) asılı olaraq translyasiya və ya folding prosesləri 10%-dən 90%-ə qədər pozula və xəstəliyin klinikasında müxtəlifliyə səbəb ola, patogen təbiətli toksiki aralıq məhsulların toxuma və həyatı vacib orqanlarda toplanması ilə orqanizmin normal inkişafının pozğunluğu və erkən letal sonluğu ilə nəticələnə bilər⁵. Bunlarla yanaşı, bir çox hallarda mutasiyalar neytral olub, genetik polimorfizmlə müşayiət olunsada, formalaşacaq zülalın strukturuna təsir etmir. Bu baxımdan klassik qalaktozemiyanın yaranmasına səbəb olan *GALT* geninin mutasiyalarının molekulyar-genetik skriningi, onların qalaktozo-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyinin dəyişməsində rolunun araşdırılması, xəstəliyin klinikasına təsirinin öyrənilməsi bu irsi xəstəliyin diaqnostikası, profilaktikası və terapiya yollarının düzgün müəyyənləşdirilməsində olduqca əhəmiyyətlidir.

GALT geninin mutasiyaları ilə şərtlənən qalaktozemiyanın ən geniş yayılmış formasının⁶ Azərbaycan Respublikasının əhalisində bu günədək öyrənilməməsi, rast gəlmə tezliyinin təyin edilməməsi, genetik təbiəti haqqında əsaslı məlumatın yoxluğu, allel variantlarının identifikasiya olunmaması cari tədqiqat işinin mövzusunun aktuallığını əsaslandırır və onun yerinə yetirilməsinin labüdlüyünü müəyyən edir.

Tədqiqatın obyekti və predmeti. Tədqiqat işində 576 (299 oğlan və 277 qız) yenidoğulmuş və 138 (70 oğlan və 68 qız) mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqda qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyi öyrənilmişdir.

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri. Tədqiqatın məqsədi Bakı şəhəri yenidoğulmuşlarında və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlarda qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyini skrining etmək, genetik təbiətini, biokimyəvi polimorfizmini, kliniki xüsusiyyətlərini müqayisəli tədqiq etmək, yenidoğulmuşlar və xəstə uşaqlar arasında

⁵ Rubio-Gozalbo M.E., Haskovic M., Bosch A.M., Burnyte B., Coelho A.L., Cassiman D., Couce M.L., Dawson C., Demirbas D., Derks T. The natural history of classic galactosemia: Lessons from the GalNet registry. *Orphanet J. Rare Dis.* 2019;14:86. doi: 10.1186/s13023-019-1047-z. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

⁶ Berry, G.T. Classic Galactosemia and Clinical Variant Galactosemia. In *Gene Reviews*; Adam, M.P., Mirzaa, G.M., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J.H., Gripp, K.W., Amemiya, A., Eds.; University of Washington: Seattle, WA, USA,

təsədüf olunma tezliyini aşkar etmək olmuşdur. Bu məqsədə nail olmaq üçün qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

1. Yenidoğulmuşlar və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında immunoferment analiz üsulu əsasında qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyinin skriningini həyata keçirmək;

2. Yenidoğulmuşlar və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlarda qalaktozemiya ilə əlaqəli qanın biokimyəvi göstəricilərini tədqiq etmək;

3. Aşkar edilmiş xəstələrdə *GALT* geninin molekulyar strukturunu identifikasiya etmək, allel variantlarını və xəstəliyin irsilik tipini müəyyən etmək;

4. *GALT* geninin allel variantları ilə qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza enziminin aktivlik göstəricilərini müqayisə etmək və bu yolla aşkarlanacaq mutasiyalar ilə gen ekspressiyası və zülal polimorfizmləri arasındakı əlaqələri müəyyənləşdirmək;

5. Yenidoğulmuşlar və xəstə uşaqlar arasında qalaktozemiya xəstəliyinin rast gəlmə tezliyini təyin etmək;

6. Hər hansı digər irsi mübadilə xəstəliyi və ya xəstəliklərindən əziyyət çəkən qalaktozemiya xəstə uşaqlarda xəstəliyin klinikasının tədqiqi;

7. Qalaktozemiya şübhəli xəstələrdə hipolaktoziya xəstəliyinə səbəb ola biləcək *LCT* geninin *MCM6* enhanserinin polimorfizmini araşdırmaq;

8. Yenidoğulmuşlarda qalaktozemiya xəstəliyinin profilaktika yollarını təklif etmək.

Tədqiqat metodları. Tədqiqat işində qalaktozemiya xəstəliyi immunoferment analizi üsulu və NGS (Next Generation Sequencing – gələcək nəsil sekvensi) texnologiyasının tətbiqi ilə skrining edilmiş, nəticələrin statistik analizi aparılmışdır.

Müdafiəyə çıxarılan əsas müddəalar:

1. Bakı şəhərinin yenidoğulmuşlarında qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyinin identifikasiyası tədqiq olunan populyasiyada cari xəstəliyinin mövcudluğunu təsdiqləyir;

2. *GALT* geninin c.563 (A→G), c.974 (C→T) və c.997 (C→T) tranzisiyaları (müvafiq olaraq, p.188 (Gly→Arg), p.325 (Pro→Leu), p.333 (Arg→Trp) amin turşu əvəz olunmaları) zülalın nativ

quruluşunun pozulması ilə xəstəliyin ağır kliniki formada fenotipik təzahürünə səbəb olur;

3. *GALT* geninin 10-cu ekzonunun c.940 (A→G) (p. 314 (Asn→Asp)) tranzisiyası homoziqot irsiyyət tipində qalaktoza-1-fosfat uridiltransfera fermentinin yarı aktivliyinə səbəb olaraq, xəstəliyin Dyuart – yüngül kliniki forması ilə müşayiət olunur.

4. İkinci dərəcəli ailə üzvlərində səbəbi məlum olmayan körpə ölümünün izlənilməsi, qohum nikahda olan 2 evli cütlükdə *GALT* geninin 5' translyasiya olunmayan regionunda (UTR - untranslated region) c.-119_ -116 mövqeyində GTCA delesiyasının heteroziqot vəziyyətdə aşkarlanması yuxarıda qeyd olunmuş sıfır allelləri ilə yanaşı gen repressiyasına səbəb bu missens mutasiyanın da Azərbaycan populyasiyası üçün səciyyəvi olduğunu söyləməyə əsas verir.

5. Xəstəliyin nöqtəvi mutasiyalarının identifikasiyası və kliniki təzahürünün səciyyələndirilməsi molekulyar genetik skriningin ailə planlaşdırılması zamanı nəzərə alınmasında və risk qrupu olan ailələrdə növbəti uşağın sağlam doğulacağını proqnozlaşdırılmasında əhəmiyyətli rol oynayır.

6. Aşkarlanmış mutasiyalar yenidoğulmuşlarda və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlarda pasport məlumatı kimi istifadə olunmaqla müvafiq terapiya üsulunu təklif etməyə imkan verir.

Tədqiqatın elmi yeniliyi. İlk dəfə olaraq, *GALT* geninin molekulyar strukturunun sekvensi və immunoferment analizi üsullarının kompleks tətbiqi ilə Bakı şəhəri yenidoğulmuşları və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyi identifikasiya edilmiş, xəstəliyin yenidoğulmuşlar, mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında rast gəlmə tezliyi öyrənilmiş, yerli populyasiya üçün səciyyəvi allel profilləri və allellərin təbiəti səciyyələndirilmişdir. Yenidoğulmuşlar arasında *GALT* geninin həm missens mutasiyalarla şərtlənən letal xarakterli sıfır allelləri, həm sinonimik kodonun yaranması ilə fenotipik aşkarlanmayan neytral alleli, həm də izoallelləri identifikasiya olunmuş, xəstəliyin ağır və Dyuart kliniki formaları fərqləndirilmiş, letal allel daşıyıcıları aşkarlanmışdır ki, bu da Azərbaycan populyasiyasında xəstəliyin genetik daşıyıcılarının yayıldığını və

xəstəliyə qarşı preventiv skrining proqramlarının tətbiqinin olduqca əhəmiyyətli olduğunu təsdiqləyir. *GALT*, *IDS* və *ABCC2* genlərində mutasiyaların aşkarlanması, multi-genetik patologiyaların birgə müşahidəsinin mümkünlüyünü göstərir və irsi metabolik xəstəliklərdə kompleks genetik analizlərin tətbiqinin zəruriliyini sübut edir.

Tədqiqatın nəzəri və praktik əhəmiyyəti. Azərbaycanda, ilk dəfə olaraq, immunoferment analizi və molekulyar-genetik skriningin kompleks tətbiqi nəticəsində qalaktozemiyanın daşıyıcılıq və rastgəlmə tezliyi müəyyən olunmuşdur ki, bu da yenidoğulmuşların irsi metabolik xəstəliklərə, o cümlədən qalaktozemiya görə erkən skrining proqramlarının hazırlanmasının labüdlüyünü təsdiqləyir və erkən postnatal dövrdə tətbiq ediləcək terapiya əsasında xəstəliyin klinikasının ağırlaşmasının qarşısını almağa xidmət edir.

GALT genində aşkarlanmış spesifik mutasiya spektri ölkə əhalisi üçün iqtisadi cəhətdən daha səmərəli olan məqsədyönlü diaqnostik panellərin tərtib olunması və lokal genetik testlərin tətbiqinə şərait yaradır. *GALT* geninin 563-cü mövqeyində A→G tranzisiyasına (p.188 Gly→Arg) əsaslanan missens mutasiyasının həm yenidoğulmuşlar, həm də mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlarda homoziqot və heteroziqot hallarda identifikasiyası, həmçinin qohum nikahda olan 2 evli cütlüyün hər bir üzvündə 5' UTR -da c.-119_ -116 mövqeyində GTCA delesiyasının heteroziqot vəziyyətdə aşkarlanması bu sıfır allellərinin diaqnostik marker kimi istifadəsini tövsiyə etməyə əsas verir.

İrsi mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlarda multi-genetik patologiyaların birgə müşahidəsi, diferensial diaqnostika zamanı geniş genetik analizlərin tətbiqinin vacibliyini göstərir və səhiyyədə genetik konsultasiyanın əhatə dairəsinin genişləndirilməsini aktuallaşdırır. Bu baxımdan metabolik xəstəliklərdən əziyyət çəkən uşaqlar üçün genişləndirilmiş genetik sekvensləmə testlərinin tətbiqi məqsədəuyğun hesab olunur.

Əldə edilmiş məlumatlar irsi metabolik xəstəliklərin genetik reyestrinə qalaktozimyanın identifikasiyasının da daxil edilməsinin və genetik konsultasiya mərkəzlərində istifadəsinin əhəmiyyətliliyini sübut edir.

Respublikadakı doğum evlərində, uşaq xəstəxanalarında xəstəliyin skrininginin aparılması, xəstə uşaqların valideynləri ilə

maarifləndirici söhbətlərin təşkili, genetik riskli ailələrdə tibbi-genetik konsultasiya və hamiləlik dövründə dölnün ana bətnində prenatal diaqnostikasının reallaşdırılması kimi profilaktik tədbirlər xəstə uşaqların doğulması riskinin tamamilə ləğv edilməsinə xidmət edəcəkdir.

Tədqiqat nəticələri xəstəliyin skriningi, ailəvi daşıyıcılıq halları və genetik məsləhət xidmətlərinin təşkili üçün baza məlumatı kimi istifadə oluna bilər.

İşin aprobasiyası və tətbiqi. Dissertasiya işinin əsas nəticələri Azərbaycan xalqının böyük oğlu, Ulu Öndər Heydər Əliyevin anadan olmasının 94-cü ildönümünə həsr olunmuş gənc alim və tədqiqatçıların "Müasir Biologiyanın İnnovasiya Problemləri" mövzusunda VII Beynəlxalq elmi konfransında (Bakı, 2017), Akademik Cəlal Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr edilmiş "Innovations in Biology and Agriculture to Solve Global Challenges" mövzusunda gənc alimlərin və tələbələrin beynəlxalq elmi konfransında (Bakı, 2018), Azərbaycan Xalq Cümhuriyyətinin 100 illik yubileyinə həsr olunmuş doktorant və gənc tədqiqatçıların respublika elmi konfransında (Bakı, 2018), ümummilli lider Heydər Əliyevin anadan olmasının 95 illiyinə həsr olunmuş "XXI əsrdə ekologiya və torpaqşünaslıq elmlərinin aktual problemləri" mövzusunda VII Respublika elmi konfransında (Bakı, 2018), Azərbaycan Memarlıq və İnşaat Universitetində təşkil olunmuş böyük Azərbaycan şairi İmadəddin Nəsiminin 650 illik yubileyinə həsr olunmuş doktorantların və gənc tədqiqatçıların XXIII Respublika Elmi konfransında (Bakı, 2018), Latin Amerikasında keçirilmiş "Natural and applied sciences" mövzusunda beynəlxalq elmi konfransda (Meksika, 2022) müzakirə edilmişdir.

Dissertasiya işinin yerinə yetirildiyi təşkilatın adı. Dissertasiya işi Bakı Dövlət Universitetinin Genetika kafedrasında yerinə yetirilmişdir.

Dissertasiyanın struktur bölmələrinin ayrılıqda həcmi qeyd olunmaqla dissertasiyanın işarə ilə ümumi həcmi. Dissertasiya işi giriş (17 096 işarə), 22 paragrafi əhatə edən 5 fəsil (I fəsil – 57 860 işarə, II fəsil – 13 308 işarə, III fəsil – 68 791 işarə, IV fəsil – 27 704 işarə, V fəsil – 3 872 işarə), yekun (1 691 işarə), nəticə (3 407 işarə),

praktik tövsiyələr (1 319 işarə), 210 adda istifadə edilmiş ədəbiyyat siyahısı və ixtisarlara siyahısı olmaqla A4 ölçülü 150 kompüter səhifəsində əks olunmuşdur, işin ümumi həcmi (sxemlər, şəkillər, cədvəllər, qrafiklər, ədəbiyyat siyahısı və ixtisarlara siyahısı istisna edilməklə) 195 048 işarə təşkil edir. Dissertasiya işinə 30 şəkil, 9 sxem və 6 cədvəl daxil edilmişdir.

I FƏSİL. ƏDƏBİYYAT İCMALI

Dissertasiya işinin I fəslində yerli və xarici ədəbiyyat materialları əsasında tərtib edilmiş, icmal xarakterlidir. Fəsilə irsi mübadilə xəstəlikləri, onların təsnifatı, qalaktozemiya xəstəliyinin molekulyar xarakteristikası, biokimyəvi və kliniki polimorfizmi, dünya əhalisində təsadüf olunma tezliyi və s. ədəbiyyat mənbələrinə istinad olunmaqla müqayisəli şəkildə, məntiqi ardıcılıqla təhlil edilmişdir.

II FƏSİL. TƏDQIQATIN MATERIAL VƏ METODLARI

Qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyinin skriningi 2015-2023-cü illər ərzində Bakı şəhərində 576 (299 oğlan və 277 qız) yenidoğulmuş və 138 (70 oğlan və 68 qız) mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşağın kapillyar və venoz qanından (cəmi 714 qan nümunəsi) istifadə olunmaqla aparılmışdır.

Yenidoğulmuşlarda qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyi immunoferment analizi (İFA) üsulu⁷ ilə təyin edilmişdir.

Genom DNT-si limfositlərdən DNT kitlərindən istifadə olunmaqla ekstraksiya edilmiş, amplifikasiya keyfiyyəti 1,7% aqaroza gəllərində 45-60 dəq. müddətində elektroforez olunmaqla təyin edilmişdir.

PZR üçün 5 mkl genom DNT-si, 30 mkl xüsusi distillə suyu, 8,2 mkl 0,5M TAE buferi, hər biri 2,5 mkl olmaqla F (forward) və R (reverse) praymerlər, 1,3 mkl dNTP, 0,63 mkl *Taq* DNT polimeraza

⁷ Perlmann, Peter et al. "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. İmmunokimya. 1971; 8(9): 871-4. Perlmann, Peter et al. "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G." İmmunokimya. 1971; 8 (9): 871-4.

fermentindən ibarət reaksiya qarışığı hazırlanmış və 95°C - 2 dəq. denaturasiya, 95°C-30 san., 60°C - 30 san. və 77°C 2 dəq. olmaqla 30 sikl, həmçinin 72°C 10 dəq. saxlanmaqla 4°C-də tamamlanan PZR-lar aparılmışdır. Tədqiqatda 100 bp (100 n.c.) *DNA Ladder*-dən istifadə edilmiş, ampikonlar 0.5 mkq/ml etidium bromid məhlulunda rənglənmişdir. Genin allel variantları ampikonların nukleotid ardıcılığının skriningi əsasında təyin olunmuşdur.

Maple kompüter proqramı vasitəsilə qalaktozemiya yenidəğulmuşlar və uşaqlarda qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyinin ananın və atanın müvafiq göstəricilərindən asılılığını müəyyənləşdirən regressiya analizi aparılmışdır.

III FƏSİL. QALAKTOZEMİYA İRSİ MÜBADİLƏ XƏSTƏLİYİNİN BİOKİMYƏVİ VƏ MOLEKULAR- GENETİK TƏDQIQI

Qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyinin yenidəğulmuş və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlarda tədqiqi nəticəsində, 4 yenidəğulmuş və 1 xəstə uşaqda fermentin, demək olar ki, tam çatışmazlığı, 1 yenidəğulmuş və 1 xəstə uşaqda isə sintezinin qismən baş verdiyi aşkar edilmişdir (cədvəl 1). Belə ki, yenidəğulmuş-1, yenidəğulmuş-2, yenidəğulmuş-4 və yenidəğulmuş-5-də fermentin aktivliyi, müvafiq olaraq, 7 mU/g Hb, 8 mU/g Hb, 8 mU/g Hb və 7 mU/g Hb təyin edilmişdir ki, bu da fermentin, tam defisitinə və homoziqot irsiyyət tipinə uyğundur. Qəbul olunmuş beynəlxalq standartlara əsasən, qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyi normada 308 mU/g Hb, missens mutasiyalarla şərtlənən heteroziqot tipində 140 – 222 mU/g Hb, Dyuart variantında – 57-140 mU/g Hb, xəstəliyin homoziqot tipində isə ~ 8 mU/g Hb və daha aşağı ola bilər. Yenidəğulmuş 3-də isə tədqiq olunan fermentin aktivliyi 90 mU/g Hb-ə bərabər olmuşdur ki, bu da qalaktozemiya xəstəliyinin Dyuart variantının irsilik tipinə uyğundur. Yenidəğulmuşların valideynlərində qalaktoza-1-fosfat uridil transferaza fermentinin qalıq aktivliyi onların heteroziqot daşıyıcılığını təsdiq etmişdir; belə ki, ferment aktivliyi normadan aşağı olan 5 yenidəğulmuşun valideynlərində ferment aktivliyi 150 - 222 mU/g Hb sərhəddində dəyişmişdir (cədvəl 1).

Cədvəl 1. Xəstə yenidoğulmuşlar, uşaqlar və ailə üzvlərində qalaktoza-1-fosfat uridiltrasferaza fermentinin aktivliyi və irsilik tipi

Pasient	Qalaktoza-1-fosfat uridiltrasferaza fermentinin aktivliyi	Genotip
Yenidoğulmuş-1	7 mU/g Hb	Kompaund
Ana – 1	170mU/gHb	Heteroziqot
Ata – 1	150 mU/gHb	Heteroziqot
Yenidoğulmuş-2	8 mU/g Hb	Homoziqota
Ana – 2	170 mU/gHb	Heteroziqot
Ata – 2	180 mU/gHb	Heteroziqot
Yenidoğulmuş-3	90 mU/g Hb	Homoziqot
Ana – 3	222mU/g Hb	Heteroziqot
Ata – 3	210 mU/g Hb	Heteroziqot
Yenidoğulmuş-4	8 mU/g Hb	Homoziqot
Ana – 4	210 mU/g Hb	Heteroziqot
Ata – 4	170 mU/g Hb	Heteroziqot
Yenidoğulmuş-5	7 mU/g Hb	Homoziqot
Ana – 5	222 mU/g Hb	Heteroziqot
Ata – 5	190 mU/g Hb	Heteroziqot
Xəstə uşaq-1	150mU/g Hb	Heteroziqot
Ana-xəstə uşaq-1	170mU/g Hb	Heteroziqot
Ata-xəstə uşaq-1	160mU/g Hb	Heteroziqot
Xəstə uşaq-2	11mU/g Hb	Homoziqot
Ana-xəstə uşaq-1	170mU/g Hb	Heteroziqot
Ata-xəstə uşaq-1	160mU/g Hb	Heteroziqot

Qalaktozemiyalı yenidoğulmuşların və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqların qanının biokimyəvi göstəricilərinə görə (cədvəl 2), qanda qlükoza-6-fosfat dehidrogenaza (Q6FD) enziminin miqdarı (normada 100%), yenidoğulmuş-3 istisna olmaqla, həm yenidoğulmuşlarda, həm də xəstə uşaqlarda 10-30% hüdudunda olmuş, yenidoğulmuş-3-də isə 70% təşkil etmişdir ki, bu da yenidoğulmuş-3-də qalaktoza monosaxaridinin qlükoza monosaxaridinə çevrilməsi ilə Q6FD enziminin substratının yarandığını və bu enzimin sintezinə tələbatın olduğunu göstərir.

Cədvəl 2. Qalaktozemiyalı xəstələrdə qanın biokimyəvi göstəriciləri

Pasientlər	Biokimyəvi göstəricilər
Yenidoğulmuş-1	Q6FD – 10-30% (100%)
	ALT – 57 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 58 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 1,9 mmol/l (4,1-5,9)
Yenidoğulmuş-2	Q6FD – 20% (100%)
	ALT – 57 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 55 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 1,7 mmol/l (4,1-5,9)
Yenidoğulmuş-3	Q6FD – 70% (100%)
	ALT – 43 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 45 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 3,5 mmol/l (4,1-5,9)
Yenidoğulmuş-4	Q6FD – 20% (100%)
	ALT – 53 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 57 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 2 mmol/l (4,1-5,9)
Yenidoğulmuş-5	Q6FD – 20% (100%)
	ALT – 52 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 56 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 1,8 mmol/l (4,1-5,9)
Xəstə uşaq-1	Q6FD – 20% (100%)
	ALT – 42 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 45 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 1.8 mmol/l (4,1-5,9)
Xəstə uşaq-2	Q6FD – 20% (100%)
	ALT – 97 IU/L (10-40 IU/L)
	AST – 63 IU/L (15-41 IU/L)
	Qlükoza – 1.9 mmol/l (4,1-5,9)

Yenidoğulmuş-3 istisna olmaqla, yenidoğulmuşlarda qaraciyər fermentlərinin (ALT və AST) miqdarının yüksəlməsi (uyğun olaraq, 52 IU/L - 57 IU/L və 55 IU/L - 58 IU/L) qalaktoza → qlükoza çevrilməsinin pozğunluğu və qanda toplanmış qalaktozanın qaraciyərə toksiki təsiri ilə izah oluna bilər. Bu təsirin ən yüksək səviyyəsi yenidoğulmuş-1-də müşahidə olunur. Mübadilə xəstəliyindən şübhəli xəstə uşaq 1-də bu göstəricilər (uyğun olaraq, 42 IU/L və 45 IU/L),

demək olar ki, norma hüdudunda olmuş, xəstə uşaq-2-də isə əhəmiyyətli dərəcədə artaraq, müvafiq olaraq, 97 IU/L və 63 IU/L qiymətlərini almışdır.

Qanda qlükozanın miqdarı yenidoğulmuş-3 istisna olmaqla, yenidoğulmuşlarda 1,7 mmol/l (yenidoğulmuş-2) – 2 mmol/l (yenidoğulmuş-4) sərhəddində dəyişmiş, yenidoğulmuş-3-də isə normaya yaxınlaşaraq, 3,5 mmol/l təşkil etmişdir. Mübadilə xəstəliyindən şübhəli xəstə uşaqlarda da qlükozanın qandakı miqdarı aşağı, uyğun olaraq, 1,8 mmol/l (xəstə uşaq-1) və 1,9 mmol/l (xəstə uşaq-2) qiymətlərini almaqla bir daha tədqiq olunan pasientlərdə qalaktoza → qlükoza çevrilməsinin minimal səviyyədə getdiyini təsdiqləmişdir.

Qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza enziminin aktivliyi dəyişilmiş 5 yenidoğulmuş və mübadilə xəstəliyindən şübhəli 2 xəstə uşaqda, həmçinin ikinci dərəcəli ailə üzvlərində səbəbi məlum olmayan körpə ölümünün izlənilməsi, qohum nikahda olan 2 evli cütlükdə *GALT* geninin strukturunun molekulyar genetik identifikasiyası nəticəsində 10 müxtəlif mutasiya tipi: c.563 və c.940 mövqələrində A→G tranzisiyaları, c.652, c.974 və c.997 mövqələrində C→T tranzisiyaları, II intronda c.378-27 pozisiyasında G→C transversiyası, IV intronda c.507+62 və c.508-24 mövqələrində G→A tranzisiyaları, genin I ekzonunun önündə (upstream vəziyyətdə) c.129_-126 delesiyası və promotor region yaxınlığında c.-119_-116 delesiyası aşkar edilmişdir (cədvəl 3).

Yenidoğulmuş-1-də *GALT* geninin nukleotid ardıcılığının identifikasiyası nəticəsində həm VI ekzonda genin 563-cü pozisiyasında adenin nukleotidinin qüanin nukleotidi (A→G) ilə, həm də X ekzonda genin 974-cü pozisiyasında sitozin nukleotidinin timin nukleotidi (C→T) ilə əvəz olunması izlənilmişdir. Heteroziqot halda c.563 mövqeyində (genomda 9-cu xromosomun 34648170-ci nukleotində) mövcud A→G tranzisiyası missens mutasiya olub, zülalın amin turşu ardıcılığında 188-ci mövqedə qlisin amin turşusunu arginin amin turşusu ilə (Gly→Arg) əvəz olunmasına səbəb olur. Qlisin qeyri-polyar hidrofob amin turşusu, arginin amin turşusu isə müsbət yüklü yan zəncirə malik olduğundan, Gly→Arg əvəz olunması zülalın fəza konformasiyasının dəyişilməsi ilə nativ quruluşunun itirilməsi və bu yolla aktivliyinin itməsi ilə nəticələnir.

Cədvəl 3. Qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza enziminə cavabdeh *GALT* geninin identifikasiya olunmuş mutasiyaları

Pasient	Mutasiya növləri və onların səbəb olduqları amin turşu əvəzlənmələri	Genotip
Yenidoğulmuş-1	c.563 (A→G); p.188 (Gly→Arg) c.974 (C→T); p.325 (Pro→Leu)	Kompaund
Yenidoğulmuş-2	c.997 (C→T); p.333 (Arg→Trp)	Homoziqot
Yenidoğulmuş-3	c.940 (A→G); p.314 (Asn→Asp) exon 1 upstream (c.129_-126del) c.378-27 (G→C) - intron variant c.507+62 (G→A) - intron variant c.508-24 (G→A) - intron variant c.652 (C→T) p.218 (Leu=)	Homoziqot Heteroziqot Heteroziqot Heteroziqot Heteroziqot
Yenidoğulmuş -4	c.563 (A→G) p.188 (Gly→Arg)	Homoziqot
Yenidoğulmuş -5	c.563 (A→G) p.188 (Gly→Arg)	Homoziqot
Xəstə uşaq-1	c.563 (A→G) p.188 (Gly→Arg)	Heteroziqot
Xəstə uşaq-2	c.563 (A→G) p.188 (Gly→Arg)	Homoziqot
Evli cütlük 1 - (kişi)	c.-119_-116 del (Non-coding)	Heteroziqot
Evli cütlük 1 - (qadın)	c.-119_-116 del (Non-coding)	Heteroziqot
Evli cütlük - 2 (kişi)	c.-119_-116 del (Non-coding)	Heteroziqot
Evli cütlük - 2 (qadın)	c.-119_-116 del (Non-coding)	Heteroziqot

Yenidoğulmuş-1-də homoloji xromosomlarda *GALT* geninin 974-cü pozisiyasında (genom DNT-də 9-cu xromosomun 34649479-cu nukleotidində) təyin edilmiş sitozin nukleotidinin timin nukleotidinə (C→T) tranzisiyası isə zülalın 325-ci amin turşusu mövqeyində prolin amin turşusunun leysin amin turşusu ilə əvəz olunmasına (Pro→Leu) səbəb olur. Cari nukleotid əvəz olunması missens mutasiya olub, heteroziqot vəziyyətdə aşkarlanmışdır, zülalın konformasiya dəyişikliyi və aktivliyinin itməsi ilə nəticələnir. Belə ki, baxmayaraq ki, həm prolin, həm də leysin şaxəli yan zəncirə malik alifatik amin turşularına aiddir, prolin tsiklik quruluşa və ikincili amin qrupuna malik olduğundan, həmişə alfa helikal quruluşu pozur, leysin isə əksinə, asanlıqla, həm hidrogen, həm də peptid rabitələrinin yaranmasında iştirak etdiyindən, alfa helikal strukturun əmələ gəlməsində, sabilləşməsində və hidrofob zülal nüvəsinin formalaşmasında iştirak edir. Bu isə son nəticə olaraq, gen ekspressiyasında zülalın normal folding prosesinin pozulmasına və

enzimin funksiya göstərə biləcək nativ quruluşunun yaranmamasına gətirib çıxarır.

Beləliklə, yenidoğulmuş-1-də aşkarlanmış hər iki missens mutasiya kompaund xarakterdə olub, heteroziqot vəziyyətdə izlənilməsinə baxmayaraq, hər bir allel variantın gen ekspressiyasının folding səviyyəsində pozulması, orqanizmdə enzim aktivliyinin itməsi və 7 mU/g Hb bərabər enzim defisitinin yaranması ilə nəticələnir.

Cədvəl 3-ə nəzər saldıqda məlum olur ki, yenidoğulmuş-1-də VI ekzonda genin 563-cü mövqeyində heteroziqot vəziyyətdə aşkarlanmış A→G tranzisiyası Azərbaycan populyasiyası üçün xarakterik olub, eyni bir ailənin övladları olan yenidoğulmuş-4 və yenidoğulmuş-5-də homoziqot vəziyyətdə izlənilir ki, bu da onların valideynləri üçün də bu mutasiyanın səciyyəvi olduğunu qeyd etməyə əsas verir və pasientlərdə ferment aktivliyinin əhəmiyyətli dərəcədə çatışmazlığı, immunoferment analizində, uyğun olaraq, 8 mU/g Hb və 7 mU/g Hb ilə aşkarlanmasına səbəb olur. Ədəbiyyat mənbələrinə nəzər saldıqda məlum olur ki, *GALT* geninin 563-cü mövqeyində izlənilən A→G tranzisiyası Qafqaz populyasiyasında klassik qalaktozemiya allellərinin 60-70%-ni, ABŞ əhalisində 54-70%-ni təşkil edir, Sloveniya əhalisində isə 0,29% tezliklə izlənilir⁸. Bakı şəhəri yenidoğulmuşları tədqiqat qrupunda isə c.563 (A→G) tranzisiyası ilə şərtlənən sıfır allelinin tezliyi 0,434%-ə, mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar qrupunda 1.087%-ə, yenidoğulmuş və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında isə 0,56%-ə bərabər olmuşdur.

Yenidoğulmuş-2-də *GALT* geninin molekulyar-genetik analizi genin 997-ci mövqeyində homoziqot vəziyyətdə sitozin nukleotidinin timin nukleotidi (C→T) ilə əvəz olunmasını aşkar etməyə imkan vermişdir (şəkil 1). Genom DNT-də 9-cu xromosomun 34649502-ci nukleotidində baş vermiş bu tranzisiya missens mutasiya olub, zülalın 333-cü amin turşusu mövqeyində arginin amin turşusunun triptofan amin turşusuna əvəz olunması (p. 333 (Arg→Trp)) ilə nəticələnir.

⁸ Demirbas, D. Hereditary galactosemia. *Metabolism* / D.Demirbas, A.I.Coelho, M.E.Rubio-Gozalbo [et al.] // 2018;83:188–196. doi: 10.1016/j.metabol.2018.01.025. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]

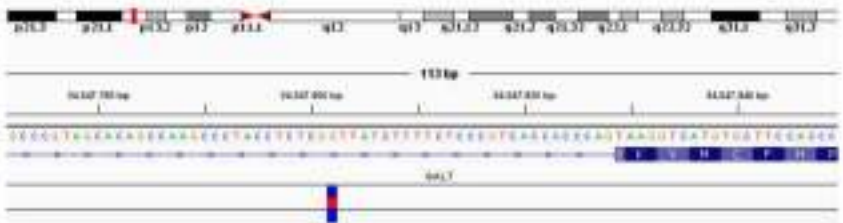
Arginin polyar, müsbət yüklü, triptofan isə qeyri-polyar hidrofob xassəli amin turşuları olduqlarından, C→T tranzisiyası ilə şərtlənən Arg→Trp əvəz olunması zülalın fəza konformasiyasının tamamilə dəyişməsinə və funksiya göstərməməsinə səbəb olur.



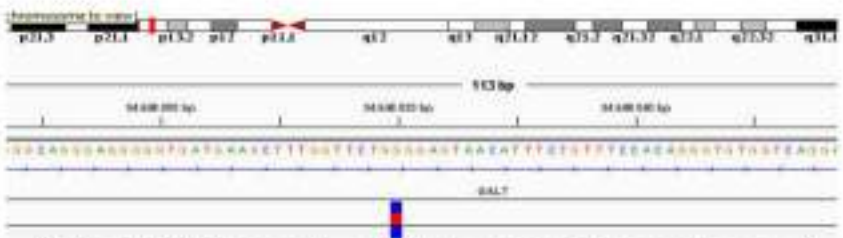
Şəkil 1. *GALT* geninin c.997 mövqeyində aşkarlanmış C→T tranzisiyası

Yenidoğulmuş-3-də *GALT* geninin nukleotid ardıcılığının identifikasiyası nəticəsində 6 fərqli mutasiya tipi aşkarlanmış (cədvəl 3), lakin pasientdə fenotipik olaraq qalaktozamiya xəstəliyinin yüngül – Dyuart variantının kliniki göstəriciləri (cədvəl 1 və 2) müəyyən edilmişdir. Aşkarlanmış mutasiyalardan 3-ü genin intron sahələrində izlənilmiş SNP-lər (single nukleotide polimorphism – tək nukleotid polimorfizmləri) olmaqla, gen ekspressiyasında və enzimin strukturunda heç bir dəyişikliyə səbəb olmamışdır və neytral mutasiya kimi qiymətləndirilir; onlardan biri genin c.378-27 mövqeyində, yəni *GALT* geninin 378 nukleotidindən - III ekzonunun 1-ci nukleotidindən 27 nukleotid əvvəl, II intron hissədə baş vermiş G→C transversiyasıdır (şəkil 2). Sitogenetik lokasiyası 9-cu xromosomun kiçik çiyininin 13-cü seqmentinin 3-cü subseqmenti, genom mövqeyi isə 9-cu xromosomun 34647805-ci nukleotididir. İrsiyyət tipi heteroziqotdur.

Digər neytral mutasiya genin c.507+62 mövqeyində, IV ekzonun 507-ci nukleotidindən 62 nukleotid sonra, IV intron hissədə baş vermiş G→A polimorfizmidir (şəkil 3). Heteroziqot vəziyyətdə aşkarlanmışdır. Sitogenetik lokasiyası 9-cu xromosomun kiçik çiyininin 13-cü seqmentinin 3-cü subseqmenti, genom mövqeyi 9-cu xromosomun 34648023-cü nukleotidir.



Şəkil 2. *GALT* geninin c.378-27 mövqeyində aşkarlanmış G→C transversiyası



Şəkil 3. *GALT* geninin c.507+62 mövqeyində aşkarlanmış G→A tranzisiyası

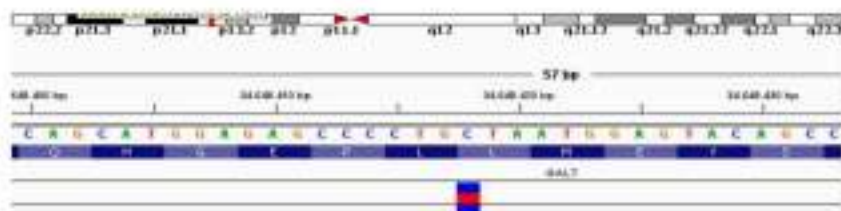
Yenidoğulmuş-3-də III neytral mutasiya heteroziqot vəziyyətdə *GALT* geninin c.508-24 mövqeyində, yəni 508-ci nukleotiddən (V ekzon) 24 nukleotid əvvəl, IV intron hissədə baş vermiş G→A tranzisiyasıdır (şəkil 4). Sitogenetik lokasiyası 9-cu xromosomun kiçik çiyininin 13-cü seqmentinin 3-cü subseqmenti, genom mövqeyi 9-cu xromosomun 34648091-ci nukleotididir.



Şəkil 4. *GALT* geninin c.508-24 mövqeyində aşkarlanmış G→A tranzisiyası

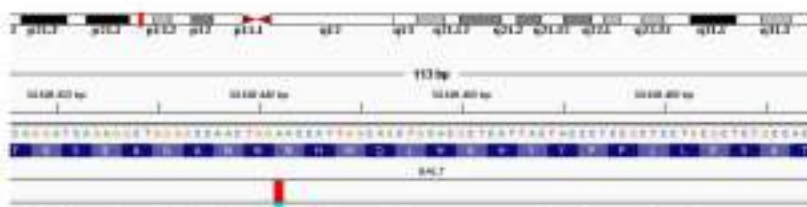
Yenidoğulmuş-3-də *GALT* geninin intron sahələrində izlənilmiş neytral xarakterli nukleotid polimorfizmləri ilə yanaşı ekzon sahələrdə də 2 nukleotid əvəz olunmasına təsadüf edilmişdir. Belə ki, onlardan biri VII ekzonda, genin c.652 mövqeyində (9-cu xromosomun

34648421-ci nukleotidində) baş vermiş C→T tranzisiyasıdır ki (şəkil 5), heteroziqot vəziyyətdə aşkar olunsada, susmuş mutasiya olub, sinonimik kodonun yaranması və zülalın 218-ci amin turşusu mövqeyində leysin amin turşusunun saxlanması ilə nəticələnmişdir və gen ekspressiyasına, həmçinin enzimin orqanizmdəki aktivliyinə təsir etməmişdir.



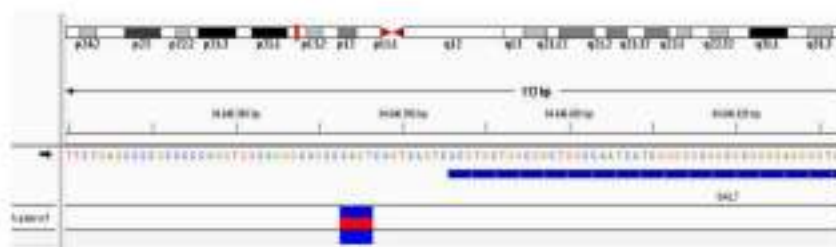
Şekil 5. *GALT* geninin c.652 mevqevində aşkarlanmış C→T tranzisiyası

Digər SNP isə genin X ekzonunda, c.940 pozisiyasında (9-cu xromosomun 34649445-ci nukleotidində) baş vermiş A→G tranzisiyasıdır ki (şəkil 6), AAC kodonunun GAC kodonu ilə əvəz olunmasına səbəb olur və bu yolla zülalın 314-cü amin turşusu mövqeyində asparagin amin turşusunun asparagin turşusuna əvəz olunması (Asn→Asp) ilə nəticələnir. Asn neytral, hidrofil təbiətli amid olduğu halda, Asp mənfi yüklü, turşu xassəli amin turşusudur. Zülalın strukturunda 314-cü pozisiyada Asn→Asp əvəz olunması domenlərarası sahəyə təsadüf etdiyindən, zülalın foldinginə qismən təsir edir və homoziqot halda ferment aktivliyinin nisbətən azlığı (90 mU/g Hb) və fenotipik olaraq xəstəliyin Dyuart – kliniki yüngül formasının meydana çıxmasına səbəb olur, bu baxımdan “Los Angeles (LA) fenotipi” kimi də məlum c.940 (A→G) tranzisiyası leaky mutasiya kimi qiymətləndirilə bilər.



Şəkil 6. *GALT* geninin c.940 mövqeyində aşkarlanmış A→G tranzisiyası

Nəhayət, yenidoğulmuş-3-də *GALT* genində aşkarlanmış sonuncu mutasiya genin c.129-126 mövqeyindəki CAGT nukleotidlərinin delesiyası olmuşdur (şəkil 7). c.129-126 mövqeyində CAGT delesiyası 1 ekzondan 129 nukleotid öndə, promotordan 9 nukleotid uzaqlıqda, translyasiya olunmayan 5'UTR genönlü sahəyə (upstream) təsadüf edir, 9-cu xromosomun 34646572-34646576 nukleotidlərinin çatışmazlığıdır. Dəyişiklik tam gen üzərində deyil, genə yaxın hissədə baş vermişdir.



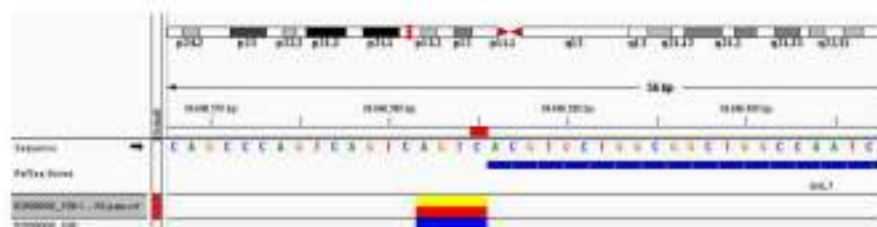
Şəkil 7. *GALT* geninin 129-126 pozisiyasında CAGT delesiyası

Zülalın strukturunda heç bir dəyişiklikliyə səbəb olmayan bu çatışmazlığın bəzi mənbələrdə (məsələn, ClinVar, NCBI gen bazaları) protein ekspressiyasına təsiri və bu yolla patogen əhəmiyyəti ehtimal olunsa da, tədqiqatımızda yenidoğulmuş-3-də digər mutasiya variantları ilə birlikdə, heteroziqot vəziyyətdə skriningi və zülal aktivliyinin 90 mU/g Hb olmasının homoziqot halda aşkarlanmış c.940 pozisiyasında A→G tranzisiyası ilə əlaqədar olması, cari mutasiyanın gen ekspressiyasında rol oynamadığını söyləməyə əsas verir.

Mübadilə xəstəliyindən şübhəli 2 uşaqda *GALT* geninin nukleotid ardıcılığının skriningi yenidoğulmuş-1, yenidoğulmuş-4 və yenidoğulmuş-5-də aşkarlanmış eyni bir mutasiyanın - c.563 mövqeyində A→G tranzisiyasının identifikasiyası ilə nəticələnmişdir. c.563 (A→G) tranzisiyası xəstə uşaq-1-də heteroziqot vəziyyət olub, enziminin yarı – 150 mU/g Hb aktivliyinə səbəb olmuş, xəstə uşaq-2-də isə homoziqot vəziyyətdə aşkarlanmaqla, ferment defisiti (11 mU/g Hb) ilə nəticələnmişdir. Xəstə uşaq-1-in valideynlərində ferment aktivliyinin orta qiymətləri (anada 170 mU/g Hb, atada 160 mU/g Hb) izlənilsə də, uşaqda yalnız 1 mutasiya heteroziqot halda təyin edilmişdir ki, bu da yalnız valideynlərin birindən uşağa mutant allelin

irsən ötürüldüyünün göstəricisidir. Xəstə uşaq-1-də həm *IDS* geninin 11-ci ekzonunda 1215-1217-ci nukleotidlərin delesiya ilə şərtlənən (iduronat-2-sulfotaza enziminə 508-ci pozisiyada fenilalaninin delesiya ilə enzim defisitinin meydana çıxması) X-ilişikli II tip mukopolisaxaridoz xəstəliyi, həm də bir sıra dərman preparatlarının mübadilə məhsullarının detoksikasiyasında iştirak edən MRP2 zülalına cavabdeh *ABCC2* geninin heteroziqot vəziyyətində sıfır alleli (c.1834 (C→T); p.612 (Arg→Trp)) aşkarlanmışdır ki, bu da xəstədə ağır kliniki simptomların təzahürünə səbəb olur.

Tədqiqata daxil edilmiş, qohum nikahda olan 2 evli cütlükdə *GALT* geninin molekulyar-genetik skriningi nəticəsində onların hər birində heteroziqot vəziyyətdə eyni bir mutasiya – genin I ekzonundan 119 nukleotid əvvəl, promotordan 9 nukleotid uzaqlıqda 5' UTR-da c.-119_-116-cı pozisiyasında GTCA nukleotidlərinin (9-cu xromosomun 34646576-34646579 nukleotidləri) delesiya (şəkil 8) aşkarlanmışdır.



Şəkil 8. *GALT* geninin c.-119_-116 (GTCA) delesiya

Mutasiya gen daxilində deyil, 5'UTR-a təsadüf etsə də, promotor aktivliyinə və bu yolla protein ekpressiyasına təsir edir və ədəbiyyatda bu mutasiyanın *GALT* geninin mRNT-nin ekpressiya səviyyəsini 55% azaltdığı³ göstərilir.

Beləliklə, aparılmış immunoferment analizi və *GALT* geninin molekulyar-genetik skrining nəticələri Azərbaycanda yenidoğulmuşlar və xəstə uşaqlar arasında qalaktozemiya xəstəliyinin mövcudluğunu təsdiqləməklə xəstəliyin dünya əhalisində rast gəlinən müxtəlif sıfır və isoallellərini identifikasiya etməyə, həmçinin onların rast gəlmə tezliklərini təyin etməyə imkan verdi.

Xəstəliyin tədqiqatda cəlb olunmuş 576 yenidoğulmuş arasında 5-də, mübadilə xəstəliyindən şübhəli 138 uşaqlardan isə 2-də identifikasiya, onun yenidoğulmuşlar arasında - 0.86% (şəkil 9),

xəstə uşaqlar arasında isə 1,45% (şəkil 10), ümumi tədqiq olunanlar (714 nəfər) arasında 0,98%-ə bərabər tezliklə rast gəlindiyini göstərir.

Yenidoğulmuş qalaktozemiya xəstələrinin ümumi tədqiq olunanlar arasında rast gəlmə tezliyi isə 0,70% təşkil etmişdir (şəkil 11).



Şəkil 9. Yenidoğulmuşlar arasında qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin çatışmazlığı olan yenidoğulmuşların payı (0,86%)



Şəkil 10. Mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin çatışmazlığı olan xəstələrin payı (xəstəliyin tezliyi-1,45% təşkil edir)



Şəkil 11. Yenidoğulmuşlar və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin çatışmazlığı olan yenidoğulmuşların payı (xəstəliyin tezliyi 0,70%)

Klassik qalaktozemiya xəstəliyinin nisbətən yüksək tezlikdə rast gəlinən Avropa (1:40000-1:60000 və ya 0,000025-0,000017) və ABŞ (1:50000 və ya 0,00002) populyasiyaları⁴ ilə müqayisədə Bakı şəhəri yenidoğulmuşlarında daha yüksək tezliklə (2015-2023-cü illər ərzində 0,0086, bir il üçün 0,00097 təşkil edir) izlənilməsi, xəstəliyin Azərbaycan populyasiyasında öyrənilməsinin labüdlüyünü, xüsusilə qohum nikahlar zamanı tibbi-genetik konsultasiyanın, molekulyar-genetik skrining vasitəsilə həm erkən, həm də prenatal diaqnostikası-nın olduqca əhəmiyyətli olduğunu söyləməyə əsas verir.

IV FƏSİL. QALAKTOZEMİYA XƏSTƏLİYİNİN PROFİLAKTİKASI

Qalaktozemiya xəstəliyinin profilaktikası məqsədi ilə tibbi-genetik konsultasiyanın hər iki növündən istifadə edilməsi tövsiyə olunur. Prospektiv tibbi-genetik konsultasiya əsasında genetik riskli ailələrdə hamiləliyin düzgün planlaşdırılmasına nail olunmalı və xəstə uşağın doğulma ehtimalı minimuma endirilməli, xəstə uşağı olan ailələrə isə retrospektiv tibbi-genetik konsultasiya tətbiq edilməlidir.

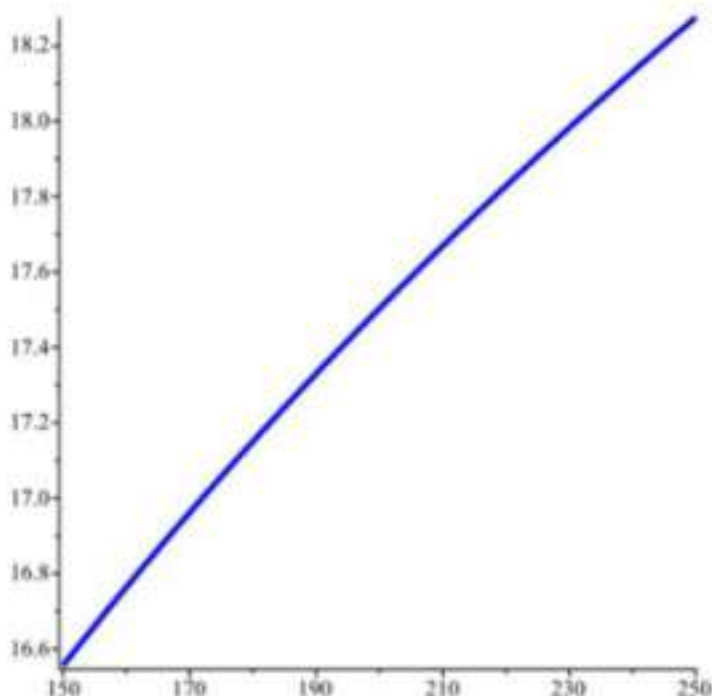
Yaxın qohumlarında irsi xəstəliklərin riski və ya səbəbi məlum olmayan yenidə doğulmuş körpələrin ölümü hallarının mövcudluğu zamanı, həmçinin qohum nikahlarda hamiləliyin planlaşdırılmasından öncə valideynliyə namizədlərin tibbi-genetik konsultasiyaya müraciət etmələri və həkim genetikin müvafiq göstərişi olduqda *GALT* geninin molekulyar-genetik skrininginin aparılması ilə onların daşıyıcı olub-olmadıqları araşdırılmalıdır. Tibbi-genetik konsultasiya əsasında genetik risk qrupuna daxil edilmiş ailələrdə, həmçinin xəstə uşağın doğulduğu ailələrdə növbəti xəstə uşağın doğulmasının qarşısını almaq məqsədi ilə erkən hamiləlik müddətində ana bətnində dölnün prenatal diaqnostikası aparılmalıdır.

Xorion hüceyrələrinin götürülməsinin sadəliyi, xəstəliyin hamiləliyin daha erkən dövrlərində aşkarlanması, xorion hüceyrələrinin daha az invaziv olan transservikal yolla əldə olunması zamanı dölnün infeksiyaya yoluxma ehtimalının minimallığı DNT molekulu səviyyəsində *GALT* geninin mutasiyalarının araşdırılması üçün transservikal üsulla biopsiyanı optimal edir.

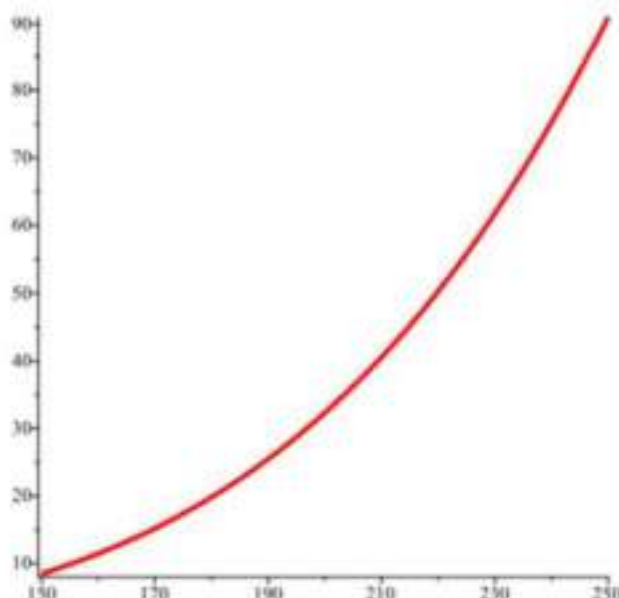
V FƏSİL. BAKI ŞƏHƏRİ YENİDOĞULMUŞLARINDA QALAKTOZEMİYA İRSİ MÜBADİLƏ XƏSTƏLİYİNİN REQRESSİYA TƏHLİLİ

5.1. Reqressiya tənliyinin qurulması və R^2 determinasiya əmsalının hesablanması. Qalaktozemiya yenidə doğulmuşlar, uşaqlar və onların valideynlərində qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza enziminin göstəricilərinin reqressiya statistik analizi aparılmış, xəstələrin *GALT* geninin aktivlik göstəricilərinin (X) analarda (Y) və atalarda (Z) uyğun göstəricilərdən asılılığı araşdırılmış və müvafiq tənliklər əsasında bu asılılıqları ifadə edən qrafiki təsvirlər əldə olunmuşdur.

5.2. Yenidoğulmuşlarda *GALT* geninin göstəricilərinin ana və atanın müvafiq göstəricilərindən asılılığının qüvvət reqressiya modelləri. Xəstə yenidoğulmuşlar və uşaqlarda *GALT* geninin göstəricilərinin analarının müvafiq göstəricilərdən asılılıq qrafikinə (şəkil 12) əsasən, analarda *GALT* geninin aktivliyi 150-250 arasında dəyişdikdə $X = 6,279 \times Y^{0,1935}$ qüvvət reqressiya modeli üçün $R^2=0,8453$ -ə bərabər olmuşdur ki, bu da modelin adekvatlığının yüksək olduğunu göstərir (korreksiya olunmuş (adjusted) reqressiya əmsalı $R^2=0,7835$). Xəstə yenidoğulmuşlar və uşaqlarda *GALT* geninin göstəricilərinin atalarının müvafiq göstəricilərdən asılılıq qrafikinə (şəkil 13) əsasən, atalarda *GALT* geninin aktivliyi 150-250 arasında dəyişdikdə $X=6,92 \cdot 10^{-10} \cdot Z^{4,6369}$ qüvvət reqressiya modeli üçün $R^2=0,8690$ əldə olunmuşdur (korreksiya olunmuş reqressiya əmsalı $R^2=8166$).



Şəkil 12. Xəstə yenidoğulmuşlar və uşaqlarda *GALT* geninin göstəricilərinin analarının müvafiq göstəricilərindən asılılıq qrafiki

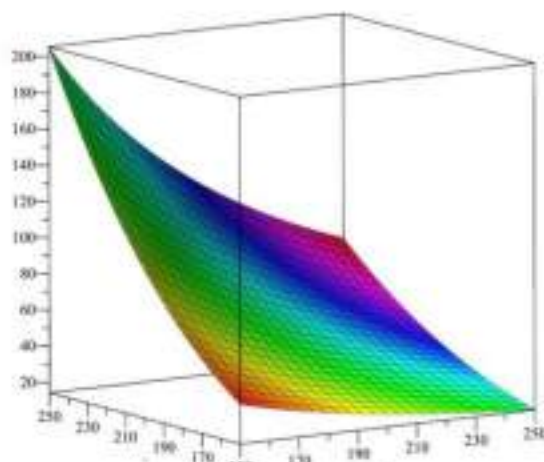


Şəkil 13. Xəstə yenidoğulmuş və uşaqlarda GALT geninin göstəricilərinin atalarının müvafiq göstəricilərindən asılılıq qrafiki

5.3. Xəstə yenidoğulmuşlar və uşaqlarda *GALT* geninin göstəricilərinin ana və atalarının uyğun göstəricilərindən asılılıq səthi. *GALT* geninin aktivlik göstəriciləri əsasında xəstə yenidoğulmuşlar və uşaqların göstəricilərinin (X) ana (Y) və atanın (Z) göstəricilərindən asılılığının 2 dəyişənli qeyri-xətti reqressiya modeli tərtib olunmuş (şəkil 14), çoxdəyişənli qeyri-xətti reqressiya modelinin tənliyi $X = 0.01270 \times Z^{3.4010} \times Y^{-1.8134}$ kimi olmuşdur. Model, atada ferment aktivliyinin göstəricilərinin artması ilə, onun övladlarında da bu göstəricilərin kəskin artacağını, ananın uyğun göstəriciləri ilə övladın göstəriciləri arasında isə tərs münasib asılılığın varlığını proqnozlaşdırmağa imkan verir. Qrafikdə rəngli səth modelin aşkarlanmış nəticəsini təsvir edir: səthin yuxarı hissəsində Z yüksək, Y aşağı, X maksimum qiymətlər alır və əksinə, Y artdıqca X kəskin şəkildə azalır. Bu, X (xəstə uşaq) üzərində Z faktorunun (atada fermentin aktivliyinin) müsbət, Y-in (ananın ferment aktivliyinin göstəricilərinin) isə mənfi təsirlərinin mövcudluğunu göstərir.

Reqressiya modeli əsasında tərtib olunmuş korrelyasiya matrisi

(cədvəl 4) Z sərbəst dəyişəni artdıqca X asılı dəyişənin artacağını, Y sərbəst dəyişəni artdıqca isə X-in azalacağını təsdiqləyir.



Şəkil 14. Xəstə yenidoğulmuş və uşaqlarda *GALT* geninin göstəricilərinin həm ana, həm də atalarının uyğun göstəricilərindən asılılıq səthi

Cədvəl 4. Y, Z və X dəyişənlərinin korrelyasiya matrisi

Dəyişənlər	Y	Z	X
Y	1	0,765	-0,058
Z	0,765	1	0,122
X	-0,058	0,122	1

Beləliklə, tətbiq olunmuş çoxölçülü qeyri-xətti regressiya modeli X dəyişəninə (övladın tədqiq olunan göstəricilərinə) daha çox Z faktoruna – atanın uyğun göstəricilərinə bağlılığını və Y-in (ananın uyğun göstəricilərinə) Z-ə təsirinin isə aşağı və mənfi olduğunu aşkarlamağa imkan vermişdir. Bu da övladlarda qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza enziminin aktivliyinin aralarında müsbət korrelyasiyaların varlığı ilə bilavasitə ata irsiyyətindən asılılığını ifadə edir. Qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza enziminin aktivliyinə ana irsiyyətinin aşkarlanmış təsiri övladların genomunda uyğun ana irsiyyət vahidlərinin aktivliklərinin epigenetik tənzimi ilə də şərtlənə bilər.

NƏTİCƏLƏR

1. Yenidoğulmuşlar və irsi mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında qalaktozemiya irsi xəstəliyinin skrininqi nəticəsində qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin çatışmazlığının heteroziqot, homoziqot və kompaund irsiyyət tipləri aşkar edilmişdir.
2. *GALT* geninin mutasiyaları ilə şərtlənən qalaktozemiya xəstəliyinin rast gəlmə tezliyi yenidoğulmuşlar arasında - 0.86%, xəstə uşaqlar arasında 1,45%, ümumi tədqiqat qrupunda 0,98%-ə bərabər olmuşdur.
3. Yenidoğulmuşlar arasında *GALT* geninin nukleotid ardıcılığının skrininqi nəticəsində 9 fərqli mutasiya aşkarlanmışdır; onlardan biri susmuş mutasiya (c.652 (C→T) p.218 (Leu=)), digəri genin 1-ci ekzonundan öndə, translyasiya olunmayan regionda təyin edilmiş c.129₋126 delesiyası və 3-ü intron regionlarda izlənilməklə (c.378-27 (G→C); c.507+62 (G→A); c.508-24 (G→A)) fenotipik aşkarlanmamış və genin izoallel variantlarını əmələ gətirmişdir. 4 missens mutasiya isə müxtəlif ekzonlardakı tranzisiyalar (c.563 (A→G); c.940 (A→G); c.974 (C→T); və c.997 (C→T)) olmaqla, zülalın fəza konformasiyasının pozulmasına səbəb olan sıfır allellərinin yaranması ilə nəticələnmişdir.
4. Mübadilə xəstəliyindən şübhəli 2 uşaqda *GALT* geninin nukleotid ardıcılığının skrininqi nəticəsində heteroziqot və homoziqot vəziyyətlərdə VI ekzonda genin 563-cü mövqeyində eyni bir mutasiya, A→G tranzisiyası ilə şərtlənən missens mutasiya identifikasiya edilmişdir ki, bu da zülalın 188-ci amin turşusu mövqeyində Gly→Arg əvəzlənməsinə səbəb olmaqla folding prosesinin pozulması ilə nəticələnmişdir.
5. *GALT* genində heteroziqot vəziyyətdə c.563 (A→G) tranzisiyanın aşkarlandığı xəstə uşaq-1-də həm də *IDS* geninin 11-ci ekzonunda 1215-1217-ci nukleotidlərin delesiyası ilə şərtlənən X-ilişikli II tip mukopolisaxaridoz xəstəliyi və bir sıra dərman preparatlarının mübadilə məhsullarının detoksikasiyasında iştirak edən MRP2 zülalına cavabdeh *ABCC2* geninin heteroziqot vəziyyətində sıfır alleli (c.1834 (C→T); p.612 (Arg→Trp)) identifikasiya edilmişdir ki, bu da xəstədə qalaktozemiyanın klinikasının kəskin ağırlaşması ilə nəticələnmişdir.

6. *GALT* geninin nisbətən yüksək intensivlikdə izlənilən c.563 (A→G) tranzisiyası ilə şərtlənən sıfır allelinin yenidüğülmüşlər tədqiqat qrupunda tezliyi 0,434%-ə, mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar qrupunda - 1.087%-ə, yenidüğülmüş və mübadilə xəstəliyindən şübhəli uşaqlar arasında isə 0,56%-ə bərabər olmuşdur.
7. Qohum nikahda olan 2 evli cütlüyün hər bir üzvündə *GALT* geninin molekulyar-genetik skrininqi nəticəsində heteroziqot vəziyyətdə eyni bir mutasiya – genin I ekzonundan 119 nukleotid əvvəl, promotordan 9 nukleotid uzaqlıqda, 5' translyasiya olunmayan regionda c.-119 -116-cı mövqelərində GTCA nukleotidlərinin delesiya identifikasiya olunmuşdur.
8. Qalaktozemiyalı yenidüğülmüşlərdə və irsi mübadilə xəstəliyindən şübhəli xəstələrdə *LCT* geninin *MCM6* enhanserinin hipolaktoziya xəstəliyinə səbəb ola biləcək polimorfizmləri aşkarlanmamışdır.
9. Xəstə yenidüğülmüşlər, uşaqlar və onların valideynlərində qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyinin 2 dəyişənli regressiya modeli aralarında statistik əhəmiyyətli müsbət korrelyasiyaların varlığı ilə enzimin aktivliyinin bilavasitə ata irsiyyətindən asılılığını göstərmişdir.

PRAKTİK TÖVSIYƏLƏR

1. Dövlət xəstəxanaları ilə yanaşı özəl tibb müəssisələrində yenidoğulmuşların həyatının ilk üç günündə daban testi ilə həyata keçirilən yenidoğulmuşların irsi metabolik skrininginə (tandem MS) total qalaktoz miqdarının təyininin icbari qaydada daxil edilməsi tövsiyə olunur.
2. Yenidoğulmuşlarda qalaktozemiya xəstəliyinin erkən skriningi və onlara həyatlarının ilk günlərindən düzgün müalicənin tətbiqi məqsədi ilə həkim neonatoloqların, həkim genetiklərin iştirakı ilə xüsusişdirilmiş treninqlərə cəlb olunması tövsiyə olunur.
3. Yenidoğulmuşlarda həkim neonatoloq tərəfindən qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyinin defisiti aşkar edildikdə valideynlərin reproduktiv yaş həddi nəzərə alınmaqla növbəti hamiləliklər zamanı dölnün ana bətnində prenatal diaqnostikasının aparılması labüddür.
4. Respublika uşaq xəstəxanalarında hospitalizasiya olunmuş mübadilə xəstəliyinə bənzər klinikası olan pasientlərdə immunoferment analizi üsulu ilə qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentinin aktivliyinin təyini tövsiyə olunur.
5. Genetik risk qrupuna aid ailələrdə hamiləlik planlaşdırılmamışdan öncə valideynlərdə, xəstə uşağın doğulduğu ailələrdə isə erkən hamiləlik müddətində prenatal diaqnostika vasitəsi ilə *GALT* geninin molekulyar-genetik skrininginin aparılması tövsiyə edilir.

**Dissertasiya mövzusunə aid dərc olunmuş
elmi əsərlərin siyahısı**

1. Hacıyeva N.M., Əliyeva K. Ə., Hüseynova L.S., Qalaktoza-1-fosfatüridiltransferaza fermentinin geninin (GAL-1) molekulyar-genetik tədqiqi // AMEA Mikrobiologiya İnstitutunun elmi əsərləri. -Bakı: -2017, №1, - s.180-186
2. Hacıyeva N.M., Əliyeva K. Ə., Hüseynova L.S., Identification of genetic mutations in the newborn with galactosemia combined maple syrup urine disease // Bakı Universitetinin xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası. -Bakı: -2017, №2, -s. 50-56
3. Hacıyeva N.M., Əliyeva K. Ə., Hüseynova L.S., Laktaza və qalaktoza-1-fosfat uridiltransferaza fermentlərinin genetik heterogenliyinin tədqiqi //AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun elmi əsərləri. -Bakı: -2017, №1-2, -s. 188-191
4. Hacıyeva N.M. Ağcaqayın şirəsi adlı irsi mübadilə xəstəliyinin genetik diaqnostikası / Bakı Dövlət Universiteti Azərbaycan xalqının böyük oğlu, Ulu Öndər Heydər Əliyevin anadan olmasının 94-cü ildönümünə həsr olunmuş gənc alim və tədqiqatçıların elmi konfransının materialları (27-28 aprel), - Bakı: -2017, -s. 92-93
5. Hacıyeva N.M. Molecular-genetic study of MCM6 gene /Conference of young scientists and students dedicated to the 90th Anniversary of Academician Jalal A.Aliyev. -Bakı: -2018, p. 81
6. Hacıyeva N.M., Əliyeva K.Ə., Hüseynova L.S., Azərbaycan respublikasının əhalisində CFTR və GALT1 genlərinin mutasiyaları // Bakı Universitetinin xəbərləri. Təbiət elmləri seriyası. -Bakı:-2018, №3, -s. 51-57
7. Hacıyeva N.M. Hipolaktaziya xəstəliyində MCM6 geninin molekulyar genetik tədqiqi // Gəncə Dövlət Universiteti Fundamental, humanitar və təbiət elmləri seriyası. Elmi xəbərlər. - Gəncə: -2018, №4, -s.19-22
8. Hacıyeva N.M. Qalaktozemiya irsi xəstəliyinin molekulyar-genetik tədqiqi və profilaktikası // Naxçıvan Dövlət Universiteti Təbiət və tibb elmləri seriyası. Elmi əsərlər. -Naxçıvan: -2018, №7 (96), -s. 246-251
9. Hacıyeva N.M. Qalaktozemiya irsi xəstəliyi aşkar edilmiş

yenidə doğulmuşlarda biokimyəvi və molekulyar-genetik göstəricilərin tədqiqi / Azərbaycan Dövlət Pedaqoji Universiteti Doktorantların və gənc tədqiqatçıların XXII Respublika Elmi Konfransının materialları. Azərbaycan Xalq Cümhuriyyətinin 100 illik yubileyinə həsr olunur. -Bakı: -2018, №1, -s.112

10. Hacıyeva N.M. Galactosemia // Pedaqoji Universitetin xəbərləri. Riyaziyyat və təbiət elmləri seriyası. -Bakı: -2018, №4, -səh.130-136
11. Hacıyeva N.M., Hüseynova L.S. Qalaktozemiya metabolik irsi xəstəliyinin genetik formaları /Bakı Dövlət Universiteti Ümummilli lider Heydər Əliyevin anadan olmasının 95 illiyinə həsr olunmuş VII Respublika elmi konfransının materialları. -Bakı: -2018, -s. 210-211
12. Hacıyeva N.M. Qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyində GALT geninin molekulyar tədqiqi // Azərbaycan Memarlıq və İnşaat Universiteti Doktorantların və Gənc Tədqiqatçıların XXIII Respublika Elmi Konfransının materialları. Böyük Azərbaycan şairi İmadəddin Nəsiminin 650 illik yubileyinə həsr olunur. -Bakı: -2018, №4, - s.74-75
13. Hacıyeva N.M. Mutation of duarte version of galactosemia (GALT) disease found in Azerbaijan // Bulletin of Science and Practice. -Moskva: -2022, №4, - p. 284-291
<http://doi.org/10.33619/2414-2948/82/32>
14. Hacıyeva N.M., Aliyeva K.A. Molecular heterogeneity of classical and duarte galactosemia // Bulletin of Science and Practice. -Moskva: -2022, №8, -p. 129-134
<http://doi.org/10.33619/2414-2948/81/16>
15. Hacıyeva N.M. Prevention of galactosemia / Latin American Conference of Natural and Applied Sciences. -Mexico: -2022, -p. 319-322
16. Hacıyeva N.M. Molecular Basis of Galactosemia // Bulletin of Science and Practice. -Moskva: -2023, №9, -p. 371-377
<https://agris.fao.org/search/en/records/64c0c904d619ca6053e6c8f3>



Dissertasiyanın müdafiəsi 30 iyun 2025 il saat 11:00 Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.37 Dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcək.

Ünvan: Bakı şəhəri, Azadlıq pr. 155., AZ1106

Dissertasiya ilə Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq mümkündür.

Dissertasiya və avtoreferatın elektron versiyaları Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun rəsmi internet saytında (<https://www.genres.az>) yerləşdirilmişdir.

Avtoreferat 29 may 2025 il tarixində zəruri ünvanlara göndərilmişdir.

Çapa imzalanıb: ____, ____, 2025

Kağızın formatı: A5

Həcm: 39 791

Tiraj: 100