171725

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

İDİOPATİK İNFERTİL VE FERTİL ERKEKLERDE Y KROMOZOMUNDAKİ AZOSPERMİK FAKTÖR GENİNDEKİ MİKRODELESYONLAR

Dr. Ahmet Ali SANCAKTUTAR

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Özkan POLAT

UZMANLIK TEZİ
ERZURUM-2006

İÇİNDEKİLER

ONAY.....iv
TEŞEKKÜR.....v
ÖZET.....vi
ABSTRACT.....vii
GİRİŞ VE AMAÇ.....1
GENEL BİLGİLER.....3
Spermatogenez.....3
Sperm Analizi ve Parametreleri.....5
Erkek İnfertilitesi.....7
İnfertilite ve Genetik.....10
Y kromozomu ve AZF.....11
Erkek İnfertilitesine Yol Açan Genetik Hastalıklar.....15
GEREÇ VE YÖNTEM.....23
BULGULAR.....30
TARTIŞMA.....38
SONUÇLAR.....44
KAYNAKLAR.....47
EKLER.....54

ONAY

Üroloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Ahmet Ali SANCAKTUTAR'ın 'İdiopatik İnfertil ve Fertil Erkeklerde Y Kromozomundaki Azopspermik Faktör Genindeki Mikrodelesyonlar' konulu tez çalışması, Etik Kurulu'nun 25.02.2004 tarihli oturum kararı, Cerrahi Tıp Bilimleri Kurulu'nun 25.03.2004 tarih ve 3 sayılı oturum kararı ile uygun görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince gerek etik gerekse mesleki her türlü cerrahi bilgi ve beceriyi edinmemde büyük emekleri geçen değerli hocalarım; bölüm başkanımız Prof. Dr. Güray OKYAR, Prof. Dr. Azam DEMİREL, tez hocam Prof. Dr. Özkan POLAT, Doç. Dr. İsa ÖZBEY, Doç. Dr. Yılmaz AKSOY, Yard. Doç. Dr. Turgut YAPANOĞLU'na ve tüm çalışma arkadaşlarıma, tezimin genetik kısmının çalışmalarında katkıda bulunan Atatürk Üniversitesi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr. İbrahim PİRİM, Yard. Doç. Dr. Mevlüt İKBAL , biokimyasal kısmının yürütülmesinde emeği geçen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Fatih AKÇAY ve bu bölümlerdeki tüm araştırma görevlilerine, tezimin istatistiki çalışmalarında yol gösteren Tıp Eğitimi Anabilim Dalı Başkanı Yard. Doç. Dr. Hamit ACEMOĞLU'na teşekkür ederim.

Dr. Ahmet Ali SANCAKTUTAR

ÖZET

Bu çalışmamızda, ağır erkek faktörlü infertilitede sperm ve hormon parametreleriyle korele olarak Y kromozomundaki Azoospermik Faktör Geni (AZF) mikrodelesyonlarının varlığı araştırıldı.

Genetik testler ömür boyu bir kez yapılmakta, hekimin teşhis ve tedavisini yönlendiren çok değerli bilgiler vermektedir. Biz de infertilite insidansının ve erkek faktörünün yüksek olması nedeniyle bir klinik, genetik ve biokimyasal çalışma planladık.

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Anabilim Dalında yapıldı. Elli infertil hasta ve kontrol grubu olarak da 10 fertil erkek incelendi. Hastaların testis çapları kliniğimizdeki ultrasonografi cihazıyla ölçüldü. Serum serbest (fT) ve total testosteron (tT), prolaktin (Pro), folikül stimülan hormon (FSH), lüteinizan hormon (LH), estradiol (E_2) düzeyleri Biyokimya Anabilim Dalı hormon labaratuvarında çalışıldı. Genetik inceleme Genetik Anabilim Dalında PCR yöntemi kullanılarak yapıldı. Elde edilen semen örnekleri ışık mikroskopu ile değerlendirildi.

Olgular sperm parametrelerine göre 4 grupta randomize edildi. Birinci gruptaki hastalar azoospermik(n:30), ikinci gruptakiler ağır oligospermik(1-5 milyon/ml sperm) (n:10), üçüncü grup hastalar hafif oligospermik (5-10 milyon / ml sperm)(n:10) hastalardır. Kontrol grubunda ise normospermik olgular çalışmaya alındı(n:10).

İstatistiki analiz için Mann-Whitney Testi ve ki-kare testi kullanıldı. ''$p< 0,05$'' olması durumunda fark istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

Altmış olgunun 7'sindeY kromozom mikrodelesyonu tespit edildi. 6'sı azoospermik, 1'i ağır oligospermik grupta idi. Fertil grupta ve hafif oligospermik grupta Y kromozom mikrodelesyonu tespit edilmedi. Delesyon oranı, tüm hastalar arasında % 11.66, infertil grupta % 14, azoospermik grupta % 20, ağır oligospermik grupta % 10 olarak tespit edildi. AZF pozitifliği ile sperm sayısı ve FSH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler elde edildi. Sperm sayısı azaldıkça mikrodelesyon oranı artıyordu($p=0.018$). Delesyonlu hastaların serum FSH değerleri kontrol ve diğer infertil gruplara oranla anlamlı olarak yüksek tespit edildi($p=0.001$). AZF varlığı ile testis çapları, E_2, LH, Pro, T düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Elde ettiğimiz sonuçlarla erkek infertilitesi araştırmasında genetik çalışmaları da içeren bir algoritma yapmanın gereğini ortaya koyduk. Çalışmamızın; eğer geniş serilerle desteklenirse, bölgemizdeki idiopatik infertil erkek hastaların kromozomal delesyonları için bir prevalans çalışmasına öncülük edebileceğini düşünmekteyiz.

SUMMARY

In this study, the presence of AZF microdeletions in Y chromosome related with the hormone and sperm parameters was investigated in severe male infertility.

Genetic tests are done once in the life and provide valuable information to the physcians for the diagnosis and treatment. We also planned a clinical, genetic and biochemical study due to the high incidence of infertility and male factor predominance.

This study was carried out in Urology Department, Medical Faculty, Ataturk Universty. Fifty infertile men as the patient group and 10 fertile men as the control group were included. The diameters of the testes were measured with ultrasonography. Serum free testosterone, total testosterone, prolactin, follicule stimulating hormone, luteinizing hormone and estradiol levels were measured in the hormone laboratory. The genetic investigation was done with PCR method in the Department of Genetics. The semen sumples were examined under light microscope.

The subjects were randomly were divided into four groups in terms of sperm parameters. The first group comprised azoospermic (n=30), the second group: severe oligospermic (1-5 million/mL sperm) (n=10) and the third group: mild oligospermic (5-15 million/mL sperm) (n=10) patients. In the control group, ten normospermic cases were taken. For statistical analiysis, Many-Whitney test and chi-square test were used.

Microdeletion in Y chromosome was detected in 7 of 60 cases (6 from azoospermic group and 1 from severe oligospermic group). No microdeletion in Y chromosome was detected in the fertile and mild oligospermic groups. The deletion rate was 11.66 % in all cases, 14 % in the infertile group, 20 % in the azoospermic group and 10 % in severe oligospermic group. There were significant relations between AZF pozitivity with sperm count and FSH levels. Microdeletion rate was increasing as the sperm number decreased ($p=0.018$). Serum FSH levels were significantly higher in patients with deletion than in the other groups and control group ($p=0.001$). There was not any significantl relationship between the presence of AZF with testes diamater, serum E_2, LH, Pro and T levels.

From these data, we thought that an algorithm also containing genetic studies is needed in the investigation of male infertility. We also think that this study, if supported by larger series of patients, may be a guide for a prevalance study on chromosomal deletions of idiopathic infertility in males.

GİRİŞ

İnfertilite; eşlerin hiçbir korunma yöntemi uygulamadan en az bir yıllık düzenli cinsel birleşme sağlamalarına rağmen gebelik sağlanamaması olarak tanımlanır. Tüm evli çiftlerin % 10-15'inde infertilite ile ilgili sorunlar yaşanır. Buna sebep olan faktörlerin % 40'ı yalnız erkeğe, % 40'ı yalnız kadına, % 20'si ise her iki eşe aittir. Bu nedenle infertilitenin en az % 50'sinde erkek faktörü vardır(1).

Erkek kaynaklı infertilitede genetik patolojiler de önemli bir yer tutar. Bu genetik faktörler, öncelikle karyotip anomalileri(yapısal ve sayısal anlamda), otozomal kromozom mutasyonları ve Y kromozom mikrodelesyonları diye üçe ayrılır. Tüm karyotip analizler sonucunda, erkek infertilitesinde % 6.1 oranında kromozom anomalileri sorumlu tutulmaktadır. Sperm sayısı azaldıkça kromozom anomalileri artar. Azoospermilerde % 10-15(2,3,4,5,6), oligospermilerde % 4, normospermilerde % 1 oranında kromozom anomalileri görülür. Tüm yenidoğan erkeklerde ise % 0,04''tür(7). Seks kromozomu anomalileri daha çok azospermiklerde, otozomal anomaliler ise daha çok oligospermiklerde görülür (8).

Y kromozom mikrodelesyonları en çok kromozomun uzun kolunda(Yq) görülür. Azoospermik hastaların % 13'ünde, oligospermik hastaların ise % 3-7'sinde Y kromozomunda mikrodelesyon tespit edilir(9,10,11).

İdiopatik infertilitede % 7 hastada Y kromozomu mikrodelesyonları bulunmuştur(12,13,14). Tiepolo ve Zuffardi ilk olarak Y kromozomu uzun kolunda spermatojenik lokus olarak bilinen bir bölgeyi Azospermik Faktör(AZF) olarak tanımlamışlardır(15). Vogt ve arkadaşları da AZF'nin alt gruplarını bularak a,b,c şeklinde sınıflamışlardır(8). Son zamanlarda AZF genlerinde b ile c arasında bir lokalizasyonda AZFd alt bölgesi tanımlanmıştır ve bu bölgenin mikrodelesyonlarının daha çok hafif oligospermi ve/veya sperm morfolojisi bozukluklarına yol açtığı rapor edilmiştir(16).

Birçok araştırma Yq11 mikrodelesyonları ile spermatogenetik defektler arasında bir ilişkinin varlığını ortaya koymuştur(8,9,17). Masato Fujisava ve arkadaşlarının yaptığı 89 infertil hastayı içeren bir çalışmada, idiopatik gruptaki 54 hastanın incelenmesinde Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılarak yapılan sitogenetik çalışmada 14 hastada

mikrodelesyon rapor edilmiştir. Mikrodelesyonların ise en çok AZFc ve AZFb'de olduğu gösterilmiştir(18).

Çalışmalar sonucunda Yardımcı Üreme Tekniklerine(YÜT) başlanmadan önce genetik bir çalışma yapılmasının gerekli olduğu ve bu konuda da AZFc'nin en sık görülmesi nedeniyle, mikrodelesyon yönünden incelenmesi gerekli en önemli genetik parametre olduğu vurgulanmıştır(18). Spermiogramda sperm sayıları 5 milyon /ml'nin altında olan hastalarda Y kromozom mikrodelesyonları daha sık görüldüğünden bu hastalara genetik çalışma yapmak daha gerekli görülmektedir(21).

Y kromozomu mikrodelesyonları ile birliktelik gösteren bazı oligo-azoospermik hastalar Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE) ve İntrastoplazmik Sperm İnjeksiyonu (ICSI) yöntemleriyle tedavi olabilirler(19,12,). Bu yöntemler fertiliteyi artırırken aynı zamanda doğacak erkek çocuklardaki Y kromozom mikrodelesyonlarını da artırır(9,12,19,20).

İdiopatik infertilitesi olan erkeklerin % 3- 45'inde Y kromozomunun uzun kolunda (Yq) bulunan AZF bölgelerinde mikrodelesyonlar saptanmıştır. Bu da idiopatik infertil erkeklere TESE+ICSI uygulanmasından önce AZF mikrodelesyonlarının incelenmesi ve aileye bu konuda genetik danışmanlık verildikten sonra, işlemin gerçekleştirilmesi gerektiğinin daha etik olduğunu göstermektedir.

Genetik testler ömür boyu bir kez yapılmakta, hekimin teşhis ve tedavisini yönlendiren çok değerli bilgiler vermektedir. Zamanında yapılmış bir genetik tarama veya çalışma ile sonra yapılması muhtemel bir çok gereksiz tetkikin önleneceği gibi aynı zamanda da ekonomik açıdan da büyük bir kaybın önüne geçilmiş olacaktır.

Bu çalışmada idiopatik erkek hastalar sperm sayılarına göre gruplanarak genetik bir değerlendirme yapılmıştır. Tespit edilen Y kromozom mikrodelesyonlarının serum Estradiol, LH, FSH, Prolaktin, Testesteron düzeyleri ve testis çapları arasında olabilecek ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu sayede, idiopatik infertilitede genetik konsültasyonun önemine dikkat çekilirken, aileye genetik danışmanlık verilmesinin etik ve tıbbi zorunluluğunun da vurgulanması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

SPERMATOGENEZ

İnsan vücudundaki en karışık hücresel farklılanmalardan biri olan spermatogenez; spermatogoniumlardan olgun sperm oluşma sürecini içerir ve seminifer tübüllerde meydana gelir(22, 23, 24, 25). Bu bölgede Sertoli hücresi ve spermatogonium olmak üzere iki tip hücre vardır. Endodermal kökenli germ hücreleri vitellüs kesesinden seminifer tübüllere göç ederek spermotogonium adını alır. Spermatogoniumların gelişimi, hipofizden salınan gonadotropinler etkisiyle püberteden hemen önce başlar, yaşam boyu devam eder ve seminifer tübüllerdeki çoğunluğu sağlar(37). Olgunlaşan spermlerin belli bir morfolojik yapısı vardır(Şekil 1).

Spermetogenez 3 ayrı fazda incelenebilir.

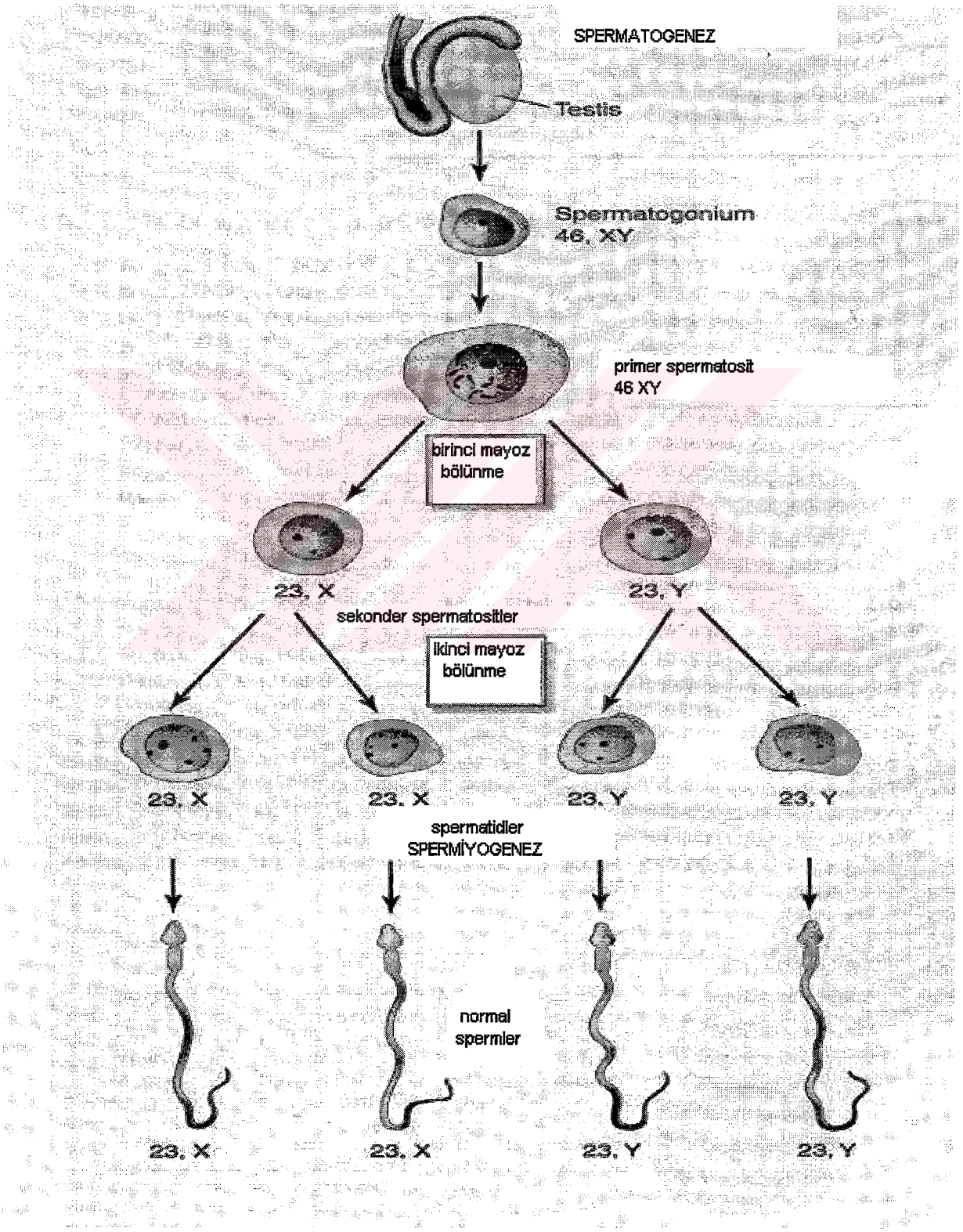
1. Spermatogonial(spermatositogenez) faz: Seminifer tübül bazal membranında oturan en ilkel spermatogoniumlar, püberteye kadar bölünmezler(23). Pübertede bu hücreler mitoz bölünmeye uğrayarak primer spermatositleri oluşturur(22,23,25). Bu hücrelerin stoplazmalarında Lumbarsch kristaloidleri vardır. Yoğun kromozom içeren büyük nükleuslara sahiptir.

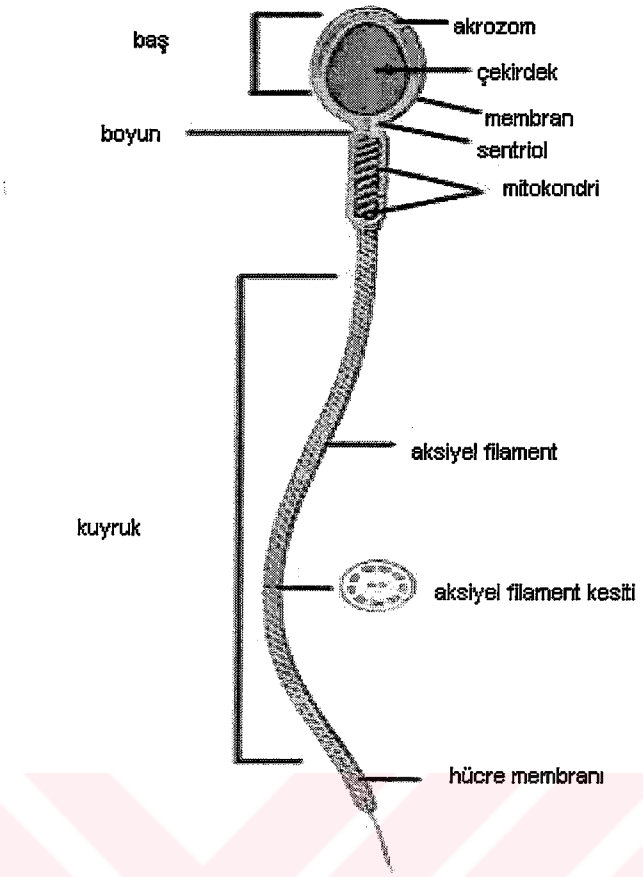
2. Spermatosit fazı (mayoz): Primer spermatositler mayoz bölünme başlamadan önce DNA'larını replike ederler. Böylece her bir primer spermatosit diploid kromozoma ve 4n miktarda DNA'ya sahip olur. Ardarda gelen iki mayoz bölünme hem kromozom hem de DNA sayısında azalmaya yol açar. Sonuçta, bir sekonder spermatositten 1n miktarada DNA'ya ve 1n miktarada kromozoma sahip 2 adet spermatid oluşur. Dolayısıyla iki mayoz sonunda dört adet haploid(1n) spermatid meydana gelir(22,23,25). Oldukça kısa süre yaşayan sekonder spermatositler, seminifer epitelde kolayca izlenemez. 2n miktarda DNA taşırlar ve ikinci mayoz bölünmeye girerler. Sonuçta her bir sekonder spermaotositten, her biri 22 adet kromozom içeren ve 1n DNA'sı olan iki haplaoid spermatid meydana gelir(22).

3. Spermatid fazı: Spermatidler 8 mikron boyunda haploid hücrelerdir. Bütün spermatidler hücreler arası stoplazmik köprülerle birbirine bağlıdır. Bir spermatid oluşunca artık daha bölünme olmaz(22,26). Haploid spermatidler bir farklılanma sürecine girerek olgun bir spermi oluştururlar(Şekil 2). Stoplazmayı azaltma yönünde gelişen olaylar sonucunda

akrozom ve kuyruk oluşur. Bu süreç yaklaşık 16-22 gün sürer(23). Yeni oluşan bu sperm hücresinin hareket yeteneği yoktur ve dolayısıyla fertilize etme kapasitesi bulunmaz(26).

Şekil 1: Spermatogenez basamaklarını gösteren şema





Şekil 2 - Normal bir sperm yapısı

Semen Analizi ve Normal Sperm Parametreleri

Semen analizi belirli standart şartlarda yapılmalıdır. Ejakülat, mastürbasyonla veya cinsel ilişki esnasında spermlere toksik etki göstermeyen prezervatiflerle toplanır. Alınan örnekler oda ısısında bekletilerek, 45 dakika içinde incelenmesine başlanılmalıdır(39).

Genelde 2-3 günlük bir cinsel perhiz önerilir. Bu şartlarda verilen bir semen numunesinde aşağıdaki kriterlerin aynı anda sağlanması durumu normal spermiogram olarak kabul edilir. Azoospermi tanısı koymak için ejakülatın 3000 g hızda 15 dakika santrifüjünü takiben pelletde hiç sperm olmaması gerekir. Ayrıca bu incelemenin 1'er ay arayla üç kez doğrulanması gerekir(40).

Normal sperm parametreleri Dünya Sağlık Örgütü(WHO) tarafından tanımlanmıştır(41)(Tablo I). Kesin kriterlere göre normal morfolojinin < % 4 olduğu ve bunun da büyük kısmının baş anomalisinin oluşturduğu olgularda ICSI başarısı düşüktür.

Böyle olgularda sperme ait kromozom anomalilerinin fertilizasyon bozukluğundan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Özellikle amorf ve uzamış baş anomalisi taşıyan spermlerde yapısal anomali sıklığı artmaktadır(42). Unutulmamalıdır ki bu değerlere sahip olmayan anormal spermiogramlı kişiler de fertil olabilir ve sperm parametreleri normal sınırlarda olan erkekler de çocuk sahibi olamayabilir

Sperm parametre patolojileri şu şekilde sınıflandırılmaktadır:

Aspermi: Hiç semen(ejakülat) olmaması,

Hipospermi: Semen miktarının az olması (1 cc'nin altında),

Hiperspermi: Semen miktarının çok olması (6 cc'nin üzerinde),

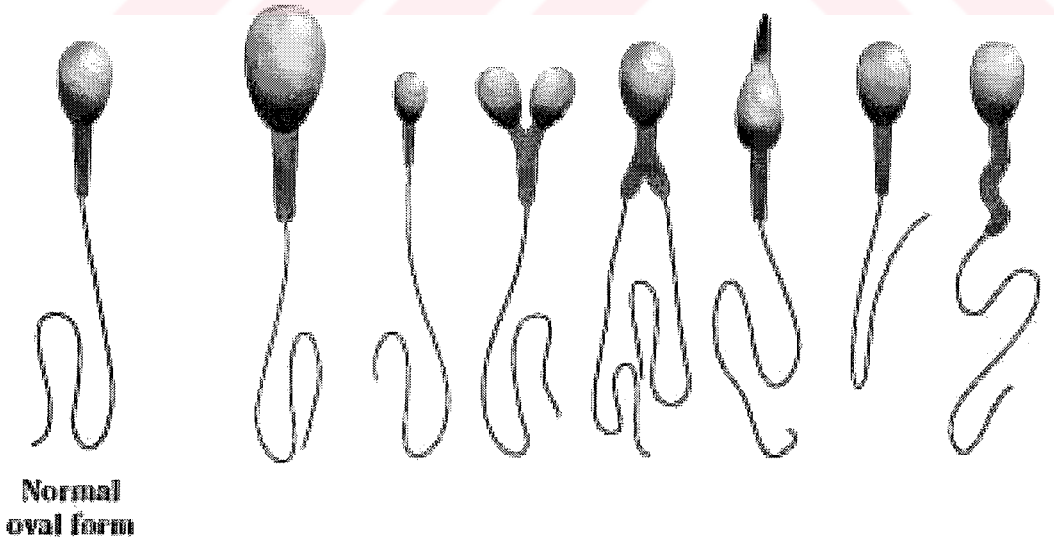
Astenospermi: Spermlerin yeteri kadar hareketli olmaması (% 50'nin altında),

Oligospermi: Sperm sayısını normalden az olması (ml'de 20 milyonun altında),

Azoospermi: Semen içinde hiç sperm hücresi olmaması,

Nekrospermi: Tüm spermlerin ölü olması,

Teratospermi: Spermlerin morfolojik olarak bozuk olması(Şekil 3).



Şekil 3. Anormal sperm morfolojileri

Tablo I. WHO kriterlerine göre normal spermiogram değerleri

Kriter	Normal Değeri
Hacim	1.5-5 ml
Renk	Gri-beyaz –sarı
pH	7.2-7.8 arası olması
Viskosite	Normal akıcılıkta
Likefaksiyon	5 - 40 dakika
Total sperm sayısı	50 milyonun üzeri
Sperm konsantrasyonu	20 milyon /ml üzeri
Motilite	İleri, hızlı, en az % 50 olması
Lökosit	1-3 milyon/ ml 'den az olmalı
İmmatür sperm hücre oranı	% 3'den az olmalı
Morfolojik oval formlar	% 50 veya üzeri olmalı
Sperm hareket kalitesi	En az 2. derecede

ERKEK İNFERTİLİTESİ

İnfertilite; eşlerin hiçbir korunma yöntemi uygulamadan en az bir yıllık düzenli seksüel aktivitelerine rağmen gebelik sağlanamamasıdır. Tüm evli çiftlerin yaklaşık % 15'i üreme problemi ile karşılaşmaktadır. Korunmayan çiftlerin % 80'inde 12 ay içinde gebelik oluşmaktadır(1). İnfertilite vakalarının yaklaşık 1/3'ü erkeğe ait faktörlerden, 1/3'ü kadına ait faktörlerden, 1/3'ü ise her iki cinsin ortak faktörlerinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, erkek faktörü infertilitenin % 50'sinden en az kısmen sorumludur(1). Sorun tesbit edilinceye kadar, çiftler bir bütün olarak ele alınıp, tedavi edilmeli ve araştırmalar bu paralelde yürütülmelidir. Erkeğin değerlendirilmesi, infertilitenin muhtemel sebebini ortaya koyacak şekilde, mantıklı ve maliyet unsurlarını da içine alacak bir şekilde yapılmalıdır.

İnfertilitede erkeğe ait problem söz konusu ise, bu sıklıkla sperm parametrelerinde bozulma ile ortaya çıkar. Oysa nadiren de olsa sperm değerleri normal olup cinsel fonksiyon bozuklukları veya penil deformiteler de infertilite nedeni olabilmektedir. Ayrıca spermin kalitatif bozukluklarını da her zaman standart testler ortaya çıkaramamaktadır. Özellikle immün nedenler, kromatin hasarları, fertilizasyon ve embriyo gelişim bozukluğu durumları da son yıllarda üzerinde sıkça durulan konular haline gelmiştir. Ortadan kaldırılması ile sağlıklı gebeliklerin elde edilebileceği bir çok çevresel faktör de, değişik mekanizmalarla spermatozoanın kapasitasyonunu ve neticede oosit ile etkileşimi olumsuz yönde etkileyerek infertiliteye neden olmaktadır(38).

Tedaviden etkin sonuç alınabilmesi için tanının iyi konulması gerekir. Örneğin obstrüktif bir patoloji veya hipogonadotropik hipogonadizm tedavi edilebilirken bilateral viral orşit sonucu gelişen bir bilateral atrofik testise bağlı infertilite tedavi edilemez. Ayrıca bazı azoospermik erkeklerin testislerinde aktif spermatogenez odakları mevcut olup bunlar tadavi ile uyarılabilmektedir(38).

İNFERTİLİTEDE TEMEL DEĞERLENDİRME

İnfertil erkeklerde yapılan değerlendirmenin amacı;

-Potansiyel olarak düzeltilebilecek nedenleri ortaya koymak,

-Tedavi ile düzelmeyecek veya sonuçta üremeye yardımcı teknikleri kullanması gerekecek durumun varlığını ortaya koymak,

-Üremeye yardımcı tekniklerle de tedavi olamayacak şekildeki hastaları tespit etmek,

-Üremeye yardımcı teknikler kullanılacaksa bunlara ait riskleri ortaya koymak, eğer neden genetik ise ortaya çıkabilecek olası anomalileri aileye anlatmak,

-İnfertilite ile beraber görülen ve testis tümörü, hipofiz adenomları santral sinir sistemi tümörleri gibi hayatı tehdit eden durumları belirlemek ve tedavi etmektir(38).

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi sadece spermiogram takibi ile yapılabilecek bir süreç değildir. Olaya multidisipliner yaklaşılmalıdır. İnfertil çiftler genelde bir yıllık düzenli cinsel birliktelik sonucu gebelik sağlanamaması durumunda ele alınmalıdır. Ancak erkekte inmemiş testis varlığı veya kadında ileri yaş durumları varlığında 1 yıllık süre beklenmemelidir(38).

Erkek faktörlü infertilite araştırmasına genel bir üreme hikayesi alınarak ve bir ay ara ile yapılan iki semen analizi ile başlanılmalıdır.

Hikayede;

-Cinsel ilişki sıklığı ve zamanlaması,

-İnfertilite süresi ve varsa önceki fertilizasyon süresi,

-Çocukluk çağı hastalıkları, çocukluk çağı gelişimi,

-Cinsel yaşam kalitesi,

-Cinsel hastalık varlığı,

-Isı gibi gonodal toksinlere maruz kalma sorgulanmalıdır(38).

İNFERTİLİTE NEDENLERİ

Erkek infertilitesi nedenleri genellikle iki şekilde sınıflanır(43);

1. Tedavi edilebilme durumuna göre: (Tedavi edilebilir, potansiyel tedavi edilebilir, tedavi edilemez gibi). Buna göre;

a. Tedavi Edilebilir Sebebler: Varikosel, obstrüksiyon(konjenital/akkiz), enfeksiyon, ejekülatör disfonksiyon, hipogonodotropik hipogonadizm, immünolojik problemler, seksüel disfonksiyon, hiperprolaktinemi

b. Potansiyel Olarak Tedavi Edilebilir Sebebler: İdiopatik, kriptoorşidizm, vazal agenezi, gonodotoksinler(ilaç ve radyasyon), İmmotil Silia Sendromu

c. Tedavi Edilemeyen Sebebler: Bilateral anorşi, Germinal Hücre Aplazisi, Primer Testiküler Yetmezlik, kromozomal anomaliler olarak sınıflandırılabilir.

2. Sebep olan patolojinin seviyesine göre: (Pretestiküler, testiküler, posttestiküler gibi) sınıflanır. Buna göre ise şöyle sınıflandırılabilir:

a. Pretestiküler Nedenler: Hipotalamus hastalıkları: İzole hipogonodotropik hipogonadizm (Kallman sendromu), idiopatik, İzole LH yetmezliği(Fertil Enükoid Sendrom),

Pituitar Hastalıklar: Pituitar yetmezlik(tümörler, infarkt, cerrahi, radyasyon, infeksiyon. hastalıkları), Hemokromatozis, ekzojen veya endojen hormonlar, androjen fazlalığı, östrojen fazlalığı, prolaktin fazlalığı, tiroid anomalileri, adrenal bozukluklar, endokrin ve metabolik hastalıklar, İzole FSH Yetmezliği

b.Testiküler Nedenler: Genetik anomaliler(Klinefelter Sendromu, XX hastalığı, XYY Sendromu, Noonan Sendromu, Down Sendromu), androjen anomalileri, bilateral anorşi, kriptoorşidizm, Sertoli-cell-only Sendromu, gonadotoksinler, ilaçlar, radyasyon, orşit, travma (testis, spinal kord, beyin, torsiyon), sistemik hastalıklar, varikosel

c. Posttestiküler Nedenler: Sperm transport hastalıkları, obstrüksiyonlar, konjenital ve edinsel sebebler, fonksiyonel sebebler, sperm motilite veya fonksiyon hastalıkları, sperm kuyruğunun ve başının konjenital defektleri, matürasyon defektleri, immünolojik hastalıklar, seksüel disfonksiyon, enfeksiyon

İNFERTİLİTE ve GENETİK

Tüm infertil hastaların % 50'sinde erkek faktörü olmasına rağmen anormal spermiogram nedenleri henüz tam olarak ortaya konamamıştır. Ancak ağır infertil erkek populasyonunda genetik patolojiler en sık karşımıza çıkan sebeptir(44). Spermin taşınmasını engelleyerek erkekte infertilite nedeni olurlar.

Erkek infertilitesi ile ilgili 3 genetik faktör kesin olarak bilinmektedir.

1.Konjenital vas deferens agenezisine neden olan Kistik Fibröz gen defektleri gibi otozomal kromozom mutasyonları,

2.Testis fonksiyonlarını bozan karyotip anomalileri (yapısal ve sayısal anomaliler),

3.İzole spermatogenez defekti yapabilen Y kromozom mikrodelesyonları(45).

Genetik bulgular ve çalışmalar; bugün için infertilitenin primer nedeninin tedavisi kadar, yardımcı üreme teknikleri yapılacak eşlere genetik danışmanlık verilmesi açısından da dikkat edilmesi gereken bir konudur. Özellikle ICSI planlanan eşler, defektif spermlerle normal transferi mümkün olmayan genetik yapıyı aktarıp genetik patolojili çocuklar meydana gelebilmesi açısından risk altındadırlar(38). Bütün bunlar yardımcı üreme tekniği uygulanacak eşlerle, bu tedaviyi düzenleyecek ekip arasında karşılıklı bilgilendirmeyi etik açıdan zorunlu hale getirmiştir.

İdiopatik İnfertilite

Tüm laboratuar, fizik muayene, klinik değerlendirmelerden sonra; varikosel, ejakülatuar kanal disfonksiyonu, endokrinopati(hipogonadotropik hipogonadizm, hiperprolaktinemi), ejakülat kanal obstrüksiyonu, gonadotoksinlere bağlı disfonksiyon(kanser kemoterapisi) ve enfeksiyon (üretrit, prostatit) gibi infertilite nedenleri arasında olan faktörlerden hiçbirisi saptanamayan hastalar idiyopatik infertil olarak kabul edilir(38). Erkek kaynaklı idiopatik infertilitede genetik patolojiler daha önemli bir yer tutar(44). İnfertil erkeklerde % 20-25 arasındaki hastalar bu gruba dahildir ve genetik çalışma asıl bu hasta grubunda yapılmalıdır. Genetik patolojiler göz önüne alınınca da Y kromozom delesyonları ön plana çıkmaktadır(46).

Y Kromozomu ve AZF Geni (Azospermik Faktör)

Y kromozomu erkeklerde en küçük kromozomlardan biridir. Ortalama büyüklüğü 60 milyon baz çifti olarak tahmin edilmektedir. Sitolojik olarak heterokromatin ve ökromatin olarak iki bölümden oluşur. Heterokromatin bölgesi genetik olarak etkisizdir. Ökromatin bölgesi ise cinsiyetin belirlenmesi, spermatogenez ile ilgili genleri içerir. Kısa kolun 1. bölgesi (Yq11) cinsiyet belirleyici geni(SRY) içerir. SRY geni yoksa gonad ovaryuma ilerler. Yani SRY geni Y kromozomundaki tek cinsiyet belirleyici gen olarak gözükmektedir. Y kromozomunun sadece bir kısmı mayotik rekombinasyona girer. En iyi dominant erkek cinsiyet belirleyici faktör olarak bilinir(47). Kromozomu dişi karakterde gelişecek olan farklılaşmamış olan gonad, SRY sayesinde gelişimini testis gelişimi ile sonuçlanan erkek gonad gelişimine yönlendiren geni taşımaktadır. Y kromozomu bir kısa(Yp) ve bir de uzun koldan(Yq) oluşmaktadır(Şekil 4). Y'nin büyük bölümü (%95) rekombine olmayan Y (NRY) olarak adlandırılır. Bu bölge insan genomunun sadece haploid bölümünü simgeler(48).

Tiepolo ve Zuffardi ilk olarak Y kromozomunun uzun kolunda spermatogenik lokus olarak bilinen bir bölgeyi Azospermik Faktör (AZF) olarak tanımlamıştır(15). Erkekte inferiliteye yol açan Y kromozom patolojileri de zaten AZF genindeki mikrodelesyonlarla oluşmaktadır. AZF q11.23 bandında bulunur. Azoospermi ve şiddetli oligospermiye yol açan, Yq11'in üst üste binmeyen(non-overlaping) bölgelerinde bulunan dört ara delesyon AZFa, AZFb, AZFc, AZFd olarak adlandırılır(60,67). Bu alanlar spermatogenezin farklı dönemlerinde gerekli birçok geni içermektedir. AZFd alt grubun delesyonlarının daha çok hafif oligospermi ile sperm morfoloji bozukluklarıyla sonuçlandığı tespit edilmiştir(16).

AZFa: AZFa aralığı erkek infertilitesi ile ilişkili olan insan Y kromozomunun uzun kolunun en proksimal bölgesidir. 1-3 Mb(Megabaz) büyüklüğe sahiptir. DFFRY(USP9Y) , DBY, UTY, TB4Y isimli genleri içerir. Bu genler hücresel housekeeping'e(tutunma) katılırlar(68). Sperm matürasyonunda rol alan proteinleri kodlamaktadır. Bu gen bölgelerinde Sy 86, Sy 95, DBY, DFFRY mikrodelesyonları tanımlanmıştır. Görülme sıklığı % 4'tür(Tablo II). En az görülen delesyondur.

AZFb: Büyüklüğü 1-3 Mb'dır. Bu aralık üzerinde 5 gen bölgesi tanımlanmıştır. Bunlar; RBM, XKRY, CDY, SMCY, eIF-1A'dır. Bu gen bölgeleri sperm matürasyonunda rol alan proteinleri kodlamaktadır(69). Bu bölgelerde şimdiye kadar Sy 117, Sy 125, Sy 127 mikrodelesyonları saptanmıştır(Tablo III). Görülme sıklığı % 13'tür.

AZFc: Heterokromatine yakın proksimalde yerleşmiştir. Büyüklüğü 1.5 Mb'dır. DAZ, PRY, TTY2, BPY2 isimli genleri içerir. Bu gen bölgelerinde DAZ Sy 254, Sy 255, Sy 277, cdy, bpy 2 delesyonları tanımlanmıştır. Spermatogenezde mRNA kodlamasından sorumludur(70). Delesyon sıklığı % 83 ile en sık görülen mikrodelesyondur.

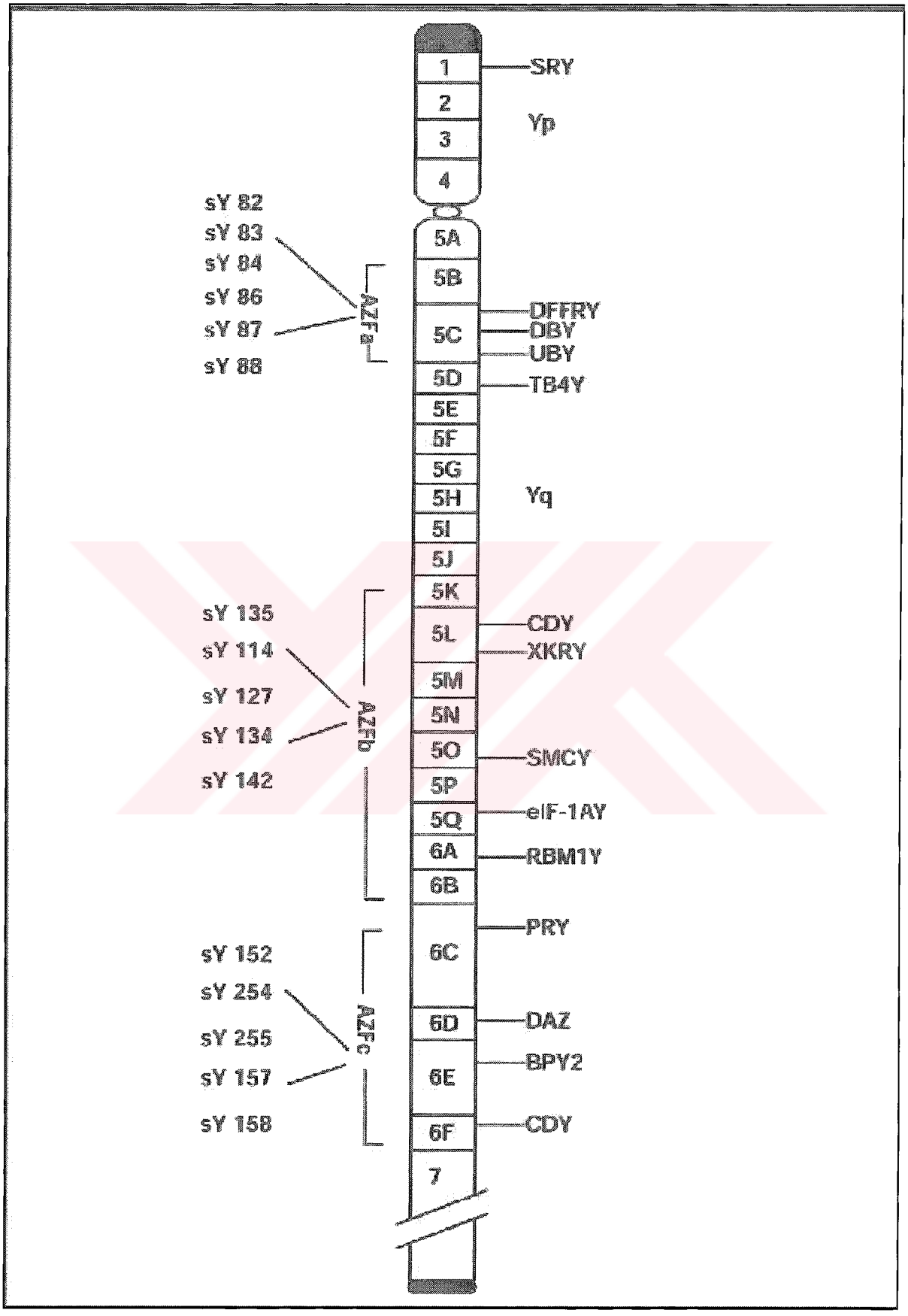
AZFd: AZFb ile AZFc arasında yerleşmiştir. Sy 145, Sy 221 isimli genleri içerir. Bu bölgeler Sy 145, Sy 152, Sy 153 mikrodelesyonlarını içerir. Hafif oligospermi ve anormal morfolojili spermlerden sorumludur(16, 67).

Tablo II: AZF genindeki mikrodelesyonların sıklığı ve neden olduğu patolojiler

Delesyon	Görülme %'si	Patoloji Yeri
AZFa	3	Sperm matürasyonunda rol alan proteinlerin kodlanması
AZFb	9	Sperm matürasyonunda rol alan proteinlerin kodlanması
AZFc	79	Spermatogenezdeki mRNA kodlanması
AZFb+c	6	Matürasyon bozukluğu + mRNA kodlanması
AZFa+b+c	3	Matürasyon bozukluğu + mRNA kodlanması

Tablo III: AZF genindeki a, b, c lokusları ve mikrodelesyonların yerleşimi

***	Lokus	Mikrodelesyon yeri
AZF	a	Sy 86 USP 9 y geninde DFFRY DEAD Box geninde DBY Sy 95
	b	Sy 117 Sy 125 Sy 127
	c	DAZ geninde Sy 254 Sy 255 cdy bpy 2 Sy 277
	d	Sy 145 Sy 152 Sy 153



Şekil 4. Y kromozomu ve AZF genindeki mikrodelesyon yerlerinin şematik resmi

ERKEK İNFERTİLİTESİNDE GENETİK DEĞERLENDİRME

Tüm infertilite olgularının yarıya yakın kısmı erkek faktörlü olduğu ve bu erkeklerin anormal sperm üretim nedeni hala tam olarak ortaya konamadığı için erkek infertilitesi hala önemini korumaktadır(49).

Bu amaçla bugün için yapılan bilimsel çalışmalar sonucu fare modelinde spesifik bir genin delesyonu oluşturularak spermatogenezde rolü olan genlerin ayırt edilmesi sağlanmıştır. Normalde transferi mümkün olmayan bu defektif genler Yardımcı Üreme Teknikleri(YÜT) sayesinde aktarılabilir. Bu nedenle oluşabilecek riskler iyi belirlenmelidir(46).

İnfertil hatta subinfertil erkeklerde bile kromozomal bozukluklar sık olarak karşımıza çıkmaktadır. Normal fertil populasyonda % 0.5 olan bu durum 9.766 infertil hastanın incelendiği bir araştırmada % 5.8 oranında tespit edilmiştir. Bu erkeklerin % 4.2'sinde seks kromozomu anomalileri, % 1.5'inde otozomal kromozom anomalileri olduğu gösterilmiştir. Öte yandan 94.965 erkek yenidoğanın incelenmesi sonucu aşağıdaki gibi genetik nedenler tespit edilmiştir. Kromozomal anomaliler yenidoğan erkeklerde % 0.38 oranındaydı. Bunlardan da seks kromozomu anomalileri % 0.14 iken otozomal anomaliler % 0.25 olarak tespit edilmiştir(7, 8, 9, 10, 11),(Tablo IV).

Tablo IV: İnfertil ve yenidoğan erkeklerde kromozomal anomali oranları

Anomali şekli	İnfertil grup n=9766	Yenidoğan grup n=94965
Kromozomal anomali	% 5.8	% 0.38
a.Seks kromozomu anomalileri	% 4.2	% 0.14
b.Otozomal kromozom anomalileri	% 1.5	% 0.25

Sayısal anomaliler hücre başına düşen kromozom sayısında görülen deviasyonlardır. Polipoidi genelde yaşamla bağdaşmaz. Belli kanserlerle beraber seyreder. Anoploidi ise yaşamla bağdaşır. Ancak kliniği hangi kromozomu etkilediğine bağlıdır(46).

Tüm karyotip analizler sonucunda erkek infertilitesinde % 6.1 kromozom anomalisi bulunur. Sperm sayısı azaldıkça bu oran artar.

-Azoospermik hastada % 10-15

-Oligospermiklerde % 4

-Normospermiklerde % 1

-Tüm yenidoğan erkek bebeklerde % 0.4 genetik anomaliler saptanmıştır(7).

1.SAYISAL KROMOZOMAL ANOMALİLER

Sayısal anomalilerin sıklığı erkek infertilitesinde belirgin olarak artmıştır. Bazı infertil erkeklerin normal fertil popülasyonu ile karşılaştırıldığında düşük kalitedeki spermatozoolarında kromozomal nondisjunction(mayozun 1. anafaz aşamasında çift değerlikli kromozomların anormal hareketleri sonucu oluşan anomali) sıklığının yüksek olması da bu spermlerle oluşacak çocukta dikkati çekecek bir konudur. Ancak bu erkeklerin somatik dokularında nondisjunction göstermemeleri iki ayrı dokuda mosaizmin olabileceğini akla getirmektedir(50). Sayısal kromozomal anomalilerle karşımıza çıkan 5 klinik hastalık vardır.

1- Klinefelter Sendromu

2- XYY Erkek

3- Miks Gonadal Disgenezisi

4- Otozomal anöploidiler

5- Noonan Sendromu

KLİNEFELTER SENDROMU

En sık kromozomal defektdir. Mayotik redüksiyon bölünmesi sırasında maternal veya paternal seks kromozom nondisjunctionuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Tüm azospermiklerin % 11-14'ünde bu sendrom mevcuttur. Ekstra bir X kromozomu vardır. İnsidansı 1/500 olup en sık karyotip % 90 47XXY (klasik form) veya 46XY/47XXY(mozaik form)'dir(51). Testis biopsilerinde seminifer tübülüs sklerozu, nadiren sertoli hücreleri ve spermatozoa bulunur. FSH yüksek, LH seviyesi yüksek veya normaldir. Total plazma

testosteronu % 60'ında azalmış veya % 40'ında normaldir. Estradiol seviyesi sıklıkla yükselmiştir. Mozaik formda ciddi anomaliler daha azdır ve bazen fertil olabilir. Spermatogenezi düzeltecek tedavi yoktur.

Sekonder seks karakterleri normal olup ancak püberte gecikmiştir. Enükoid yapı, jinekomasti, empotans ve bacak varisleri fizik muayene bulguları olabilirken, Diabetes Mellitus, lösemi de ek patoloji olarak eşlik edebilir. Bazen virilizasyon tamamlanabilir. Jinekomasti gelişmesi ile beraber meme karsinom riski oldukça artmıştır. Mozaik tipte nadiren doğal yolla babalık bildirilmiştir. Testisler 2 cm'den küçük olup palpasyonda sertlik alınır. Bazen mental gerilik ve psikolojik sorunlar görülebilir. Azoospermi mevcuttur(51).

XYY SENDROMU

İnsidansı, 1/1000'dir. Çoğu, uzun boy dışında normal fenotiplidir. Oldukça uzun boylu ve püstüler akneye sahiptirler. Agressif ve kriminal davranışlar gösterirler. Ciddi oligospermi veya azoospermi vardır. Testis biopsileri matürasyon arrresti ile komplet germinal aplaziye kadar değişen bulguları içerir. Bazı vakalar seminifer tübülüs sklerozu gösterir. Fertil vakalar da görülebilir. Çoğunluğunda LH ve testosteron normaldir. FSH seviyeleri yükselebilir (52).Tedavisi yoktur.

MİKS GONADAL DİSGENEZİSİ

Fenotip olarak erkek, dişi veya ambigus genitalyası olabilir. Cinsiyet doğumda dış genitallerin makroskobik görünümüyle belirlenir. Erken embriyonik gelişim esnasında Y kromozomunun kaybı mozaik formu olan 45XO/46XY oluşmasına yol açar. Üçte bir vakada normal karyotip vardır. Biopsilerde seminifer tübüllerde germ hücresi yoktur(53).

OTOZOMAL ANÖPLOİDİLER

Çoğu yaşamla bağdaşmaz. Yaşamla bağdaşan Down Serndromlular fertil veya infertil olabilir(54).

NOONAN SENDROMU(MALE TURNER'S SYNDROME)

Noonan sendromunun fenotipik görünümü Turner sendromuna benzer. Tipik olarak benzer özelliklere sahiptir. Bunlar; kısa boy, kalın boyun, düşük kulak, pitozis, cubitis valgus ve kardiovasküler anomalilerdir. Bu hastaların çoğunda inmemiş testis vardır, spermatogenez bozulmuştur ve infertilite mevcuttur. Testiküler fonksiyonun bozulması ile FSH ve LH

yükselmiştir. Karyotip analizlerinde, X0/XY mozaizmi gibi kromozom anomalileri görülür. Bozulmuş spermatogenezin tedavisi yoktur.

Özet olarak; seks kromozomu anomalileri daha çok azoospermiklerde otozomal anomaliler ise oligospermilerde görülür(8).

2. YAPISAL KROMOZOMAL BOZUKLUKLAR

ROBERTSON VE RESİPROKAL TRANSLOKASYONLAR

Kromozomal yeniden düzenlenme genellikle şiddetli oligospermi veya azoospermi ile beraberdir. İnfertil hastalarda bir çok spesifik translokasyon görülebilmektedir. Örneğin Robertson ve Resiprokal Translokasyonlar infertil erkeklerde 8.5 kat daha fazladır. Translokasyonu olan erkeklerde, anormal spermiogramlara rastlanırken, taşıyıcılarında ise normal semen parametreleri de bulunabilir(55).

OTOZOMAL İNVERSİYONLAR

Normal populasyona göre 8 kat fazladır. Özellikle 9. kromozomu içeren inversiyonlar azoospermi veya oligospermi ile beraberdir. YÜT ile sağlanmış gebeliklerde normale göre daha yüksek oranda translokasyonlar ve inversiyonlar çocuğa kalıtsal olarak aktarılır(56).

XX ERKEK SENDROMU

20000 doğumda bir görülür. Bu hastalar 46 XX kromozom yapısına sahiptirler. Ancak olguların % 80'inde Y kromozomu üzerindeki testis/seks belirletici bölgeye(SRY) ait bir fragmanın X kromozomu üzerindeki homolog bölgeye translokasyonu görülmektedir. SRY, Yq üzerinde yer alır. SRY defektif olduğu için sperm üretimi olmaz. Y kromozomunun üretimi olan H-Y antijeni bu tabloyu açıklamaktadır. Hipospadias insidansı yüksektir. Hastalar azoospermiktir ve erkek fenotipe rağmen sperm üretimi olmaz. Jinekomasti, dişi saç paterni, küçük testisler diğer fenotipik özellikleridir(57).

HİPOGONADOTROPİK HIPOGONADİZM

Gonadal yetmezlik ve azalmış gonadotropin seviyeleriyle karakterizedir. GnRH, FSH, LH sekresyonu azlığı sonucu spermatogenez bozuktur(71). Benzer klinik tablolarla beraber sıklıkla karşımıza çıkar.

KALLMANN SENDROMU

En sık X'e bağlı bozukluktur. İnsidansı 1/10-60000'dir. KAL-1 gen mutasyonuna bağlıdır. Kal-1 nöral adezyon molelülünü kodlar ve mutasyonunda hipotalamustan GnRH salınımı bozulur. Püberte gecikmesi, uzun boy, hipoplazik testisler, küçük penis, anosmi, sağırlık, serebellar disfonksiyon, inmemiş testis, renal anomaliler vardır. Tedavi edilebilir infertilite nedeni olması dolayısıyla klinikte tanımlanması önemlidir. Hormon replasman tedavisiyle fertil hale gelebilirler.

Bir diğer X kromozom geni olan Dax1 Geni mutasyonları, hipogonadotropik hipogonadizm ile beraber konjenital adrenal hiperplaziye yol açar. Bu gen, testis epitelyal bütünlüğü ve spermatogenezde görevlidir(72).

GnRH reseptör mutasyonları, PCI veya Konvertaz 1 gen mutasyonlarıda hipogonadotropik hipogonadizm ile ilişkilidir. Bu genler prekürsör olarak veya molekülün salınmasında görev alır(73).

Prader Willi Sendromu da obesite, mental retardasyon ve infantil hipotoni ile karakterize ve hipogonadotropik hipogonadizm varyantı da olan bir hastalıktır(74).

FSH ve LH resptör mutasyonları da hipogonadotropik hipogonadizm nedeni olabilir. Özellikle çok yüksek FSH, şiddetli oligospermi veya azoospermi, erkek kardeşlerde de infertilite, kız kardeşte ovaryen yetmezliği bilinen hastalar FSH resptör mutasyonu yönünden ciddi şekilde araştırılmalıdır(46).

STEROİD SENTEZ VE RESEPTÖR DEFEKTLERİ

Testosteron sentezi kompleks bir sistem sonucudur. Genetik defekt sonucu bir enzim eksikliğinde Konjenital Adrenal Hiperplazi benzeri tablo ortaya çıkar. Çoğu hasta virilizedir. Dış genitaller dişi ve ambigus olabilir. Testosterondan dihidrotestosteron dönüşümünde rol alan ve dış genitaller ve prostat gelişimi için çok önemli olan 5 alfa redüktaz eksikliği ciddi infertilite yapabilir(75).

-Kennedy Hastalığı: Spinal ve bulber kas zayıflığı, jinekomasti, testiküler atrofi ile seyreden X'e bağlı resesif geçişli hastalıktır(46).

-Androjen İnsensitivite Sendromları: Androjenik streroidlere end-organ rezistansına bağlıdır. Ambigus, hipospadias, mikropenis gibi klinik bulguları mevcuttur(46).

-Öströjen İnsensitivite Sendromları: Nadir görülen bir durumdur.

EKSTRATESTİKÜLER DUKTAL VE EJAKÜLAT SİSTEM ANOMALİLERİ

-Konjenital Bilateral Vaz Deferens Agenezisi: İnfertil erkeklerin % 1-2 'sinde görülür. Kistik Fibrozisin fenotipik spektrumu içinde kabul edilir. CFTR(Kistik Fibröz Transmembran Regülatör) mutasyonuna bağlıdır(77). Obstrüktif bir patolojidir. Spermatogenez normaldir.

-Persistan Müllerian Kanal Sendromu: Anti-Mülleryan Hormon(AMH) genini veya reseptör geninin mutasyonuna bağlıdır. Testiküler fonksiyonlar normaldir ama inmemiş testisler infertilite nedenidir(48).

-Young Sendromu: Kr. sinüzit, bronşektazi, obstrüktif azoospermi ile karakterizedir. Nedeni; silier fonksiyon anomalisidir(48).

-Myelodisplazi (Spina Bifida): Myelodisplazik seviye T_{10}'nun altında olursa emisyon ve ejakülatın öne atılmasına engel olarak infertilitenin nadir bir sebebi olabilir(48).

-Prune-Belly Sendromu: % 95 hasta erkektir. Karın ön duvar kaslarında zayıflık, inmemiş testis vardır. Ejakülasyon bozukluğu ve spermatogenetik bozukluk yapar(48).

3. Y KROMOZOM MİKRODELESYONLARI

Kromozomların parça kaybetmesi olayına delesyon denir. Delesyonun oluşumuna yol açacak olay bir kromozomun üzerinde dönüp ilmik oluşturmasıyla başlayabilir veya özellikle sinapsis evresinde birbiriyle temasta olan iki kromozomun kesişme noktalarında kırılmalar olması ve meydana gelen parçaların farklı kromozomlara yapışmasıyla oluşabilir(58)

Y kromozomunun kararsızlığının bir başka nedeni de, kromozom boyunca uzanan tekrarlı element kümelerinin yüksek frekansına bağlı olabilir. Bunlar kısmen neden olarak sıralanabilirken delesyonların çoğu ise de nova meydana gelir. Delesyonlar, döllenmiş yumurtalarda ya da embriyolarda ortaya çıkabilse de en olası neden bir mayotik ya da spermatid kaynaktır. Y kromozomlarındaki yüksek delesyon oranı Y kromozomunun spontan genetik materyal kaybından kolay etkilendiğini gösterir(59, 15).

Y kromozomu uzun kolunun spermatogenez için gerekli olduğu artık kabul edilen bir görüştür. İdiopatik infertil hastalarda ortalama % 7 oranında Y kromozom mikrodelesyonu

bulunmuştur. Ancak bu oran % 1'den(Vander Ven ve ark.) % 55'e(Foresta ve ark.) kadar çeşitlilik göstermektedir. Literatürdeki bu farklılıklar, çalışılan hasta gruplarının heterojenitesi, azoospermik, oligospermik veya infertil normospermik oluşlarındaki değişkenlik veya topluluklar arasındaki varyasyonlar nedeniyledir(46).

Y kromozom delesyonları ise en çok kromozomun uzun kolunda(Yq) görülür. Azoospermik hastalarda % 13, oligospermili hastalarda % 3-7 oranında Y kromozom mikrodelesyonları tespit edilmiştir(9, 10, 11).

Erkek infertillerin % 30'unda oligo-azoospermi bulunur. Bunların da % 30'unda Y kromozom delesyonu mevcuttur. Bir başka deyişle tüm erkek infertil hastaların % 7'si Y kronmozom mikrodelesyonları taşımaktadır(9).

İlk kez Trepolo ve Zufferdi karyotip analizlerde Y kromozomunun uzun kolunun kayıp olduğunu görmesiyle bu bölgenin infertilite için önemli olduğu anlaşıldı ve burası AZF(Azospermik Faktör) lokusu olarak adlandırıldı(15). AZF lokusu Y kromozomunun uzun kolunda 5. ve 6. delesyon intervalinde ve GTG(Giemsa-Trypsin-Giemsa) bantlamada q11.23 bandında yer alır ve 5 milyon baz çiftini ilgilendiren bir konumdadır. İnfertilite ile ilgili olan bu mikrodelesyonlar en az 4 bölgede oluşmaktadır: Bunlar AZFa, AZFb, AZFc, AZFd' dir(8).

Birçok araştırma, Y kromozom mikrodelesyonlarıyla spermatogenetik defektler arasında ilkişkiyi göstermiştir. Özellikle AZFa ile Sertoli Cell Only Sendromu, AZFb ile Matürasyon Arresti AZFc ile hipospermatogenez arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Yine son çalışmalar AZFd ile sperm morfolojisi arasında bir ilişkiyi göstermiştir(60).

Seksen dokuz infertil erkek hastanın incelenmesi sonucu 54 idiopatik infertil hasta içinden testis biopsi sonuçları şöyleydi: 33 hasta Sertoli cell only, 11 hasta Hipospermatogenezis, 10 hasta Maturasyon Arresti ile sonuçlandı. Tüm bu hastaların 14'ünde ise Y kromozom mikrodelesyonu tespit edildi. En sık AZFc ve daha az AZFb görülürken en az AZFa delesyonu saptandı(61).

AZFa ve AZFb mikrodelesyonu olan hastalarda, testiküler sperm elde etme girişimlerinde negatif prognostik faktör olduğu bilinmelidir. Özellikle komplet b delesyonunda hemen hemen % 0 iken inkomplet b veya c delesyonunda % 50 sperm ekstraksiyonu yapılabilir(62).

Zamanla progresif olarak sperm sayıları azalma gösteren hastalar, özellikle AZFc delesyonu yönünden önem taşır. Bu da sekonder infertil hastalarda akla gelmesi gereken bir genetik patolojidir(63).

Seksüel ambiguity, Turner sendromu, mozaik 46XY/45,X0 taşıyıcısı olan hastalarda Y kromozom delesyonu taraması 1/3 oranında AZFc defektinin saptanmasıyla sonuçlanmıştır(63).

Androlojide; fertilite, normospermi ile değil fertilitesi ispatlanmış erkekler olarak tanımlanır. Öyle ki Krausz ve Mc Elrevey'nin yapmış olduğu 229 fertil erkek bireyin 12'sinde DAZ bölgesi dışında küçük delesyon bildirilmiştir. Bunun nedeninin ise polimorfik varyant taşıyıcılık, teknik hata veya oligospermik fertiller olabileceği düşünülmüştür. Yani fertil erkeklerde de Y kromozom delesyonları saptanabilir(64).

ICSI fetüslerde seks kromozom anomali oranı % 1 olup bu da doğal yolla gebeliğin 4 katı kadardır. Yine trizomi 18 ve 21 riski yüksektir(78). Ağır erkek infertilitesinde ICSI'nin tek tedavi seçeneğinin olduğu günümüzde genetik risklerin de artacağı kaçınılmazdır.

Ağır erkek infertilitesi (azoospermi ve şiddetli oligospermi) hastalarda Y kromozom mikrodelesyonlarının varlığı rutin olarak araştırılmalıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Mart 2003 ile Mayıs 2005 tarihleri arasında Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalına infertilite nedeniyle başvuran yaşları 22 ile 38 arasında değişen (ortalama yaş: 29.2) ve idiopatik ağır erkek infertilitesi tanısı konmuş 50 hastayı ve kontrol grubu olarak da son iki yılda çocuk sahibi olmuş 10 fertil erkeği içermektedir.

Çalışmamız tek kör, kontrollü, prospektif bir çalışmadır. Bu amaçla, hastaların spermiogram değerleri ve serum hormon düzeyleri hakkında genetik çalışmayı yapan öğretim üyesine bilgi verilmemiştir.

Çalışmanın amacı; ağır erkek faktörlü infertilitede ve özellikle idiopatik grup hastalarda bir genetik çalışma yapmanın algoritmasını ve yardımcı üreme teknikleri ile tedavisi planlanan eşlere ise genetik danışmanlık verilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktır.

Hastalara, yapılacak işlemler ile ilgili gerekli bilgiler verilerek her birinin onayı alındıktan sonra ilk olarak hastalarımızın açıklanamayan erkek infertil hasta grubuna dahil olup olmadıkları tespit edilmiştir(Ek 1: Bilgilendirme ve İzin Formu). Çalışmaya aldığımız 50 infertil hasta ve 10 fertil erkek spermiogram değerlerine göre dört gruba ayrıldı. Birinci grupta 30 azoospermik hasta, ikinci grupta 10 ağır oligospermik hasta, üçüncü grupta 10 hafif oligospermik hasta ve dördüncü grupta ise 10 normospermik erkek mevcuttu(Tablo IV).

Tablo IV. Hastaların spermiogramlara göre sınıflanması

Grup numarası/ n	Spermiogram parametresi	Spermiogram değeri
I/30	Azoospermik	Sperm yok
II/10	Ağır oligospermik	0-5 milyon/ml arası
III/10	Hafif oligospermik	5-15 milyon/ml
IV/10	Kontrol grubu	Normospermi

Altmış hasta için Folikül Stümülan Hormon(FSH), Lüteinizan Hormon(LH), Prolaktin(Pro), serbest Testosteron(fT) ve total Testosteron(tT), Estradiol(E_2) seviyeleri ile, bilateral testis çapları ve spermiogram değerlerinin yer aldığı takip formu hazırlandı(Ek 2: Hasta Takip Formu). Tüm hastalara ait değerler veri olarak toplandı(Ek 3: Hastaların tüm parametrelerle olan ilişkisi). İstatistiki çalışmalar yapıldı.

Normal erkek karyotipi(46 XY) olan, transrektal ultrasonografide distal ejakülatör kanallarda obstrüksiyonu saptanmayan, fizik muayene ve skrotal Dopler USG'de varikosel tespit edilmeyen, hormon analizinde hipogonadotropik hipogonadizm bulguları olmayan, semen analizinde enfeksiyon olmayan, son altı ay içersinde hiçbir infertilite tedavi yöntemi uygulanmamış hastalar çalışmaya alındı.

Tedavi öncesi değerlendirmede; hastanın eşinin de hazır bulunduğu bir ortamda anamnezi alındı ve kapsamlı bir fizik muayenesi yapıldı. Tüm hastaların tam idrar analizi, serum BUN, kreatinin, glukoz, karaciğer fonksiyon testleri, hemogram sayımı, serum fT ve tT, Pro, E_2, FSH, LH düzeyleri çalışıldı. Spermiogram değerleri belirlendi. Bilateral testis çapları ölçüldü. Son olarak ise hastalar genetik çalışmaya alındı.

Biyokimyasal değerlendirmeler için brakial venden 5 mm kan alınarak Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarına gönderildi. 15-20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek elde edilen serum, eppandorf tüplere alınarak -80 °C' de analizin yapılacağı zamana kadar bekletildi.

FSH, LH, Pro, tT, E_2 düzeylerinin tayini chemilüminescent enzim immünassay prensibine göre çalışan İmmulite 2000, DPC marka otoanalizörde yapıldı. Bu yöntemde L2KE22 kitleri kullanıldı. fT ise RİA(radyoimmunassay) yöntemiyle Gamma C12, DPC marka gamma counter(sayıcı) ile yapıldı. Bu testte Biosource marka KIP 119000 nolu kitler kullanıldı.

Hasta sırtüstü düz pozisyonda yatarken bilateral testis çaplarının uzun aksı ölçüldü. Bu ölçümler kliniğimizde bulunan Siemens Pro Line (SLE-1) ultrasonografi cihazının süperfisial probu ile yapıldı.

Spermiogram değerlendirilmesi için örnekler 48-72 saatlik cinsel perhizden sonra elde edildi ve WHO kriterlerine göre değerlendirildi. Bu değerlendirme her hastada ve kontrol grubunda 1'er ay ara ile en az üç kez tekrarlandı. Alınan semen örnekleri oda ısısında 45

dakika bekletildi. Makroskobik değerlendirmeleri yapıldı. Ardından mikroskopik incelemeye hazırlık amacıyla semen numunesi Diff-Quick boyasıyla boyandı. Toma lamında yayıldı. X40 büyütmeyle değerlendirmeye alındı.

Genetik inceleme için karyotip tiplemesi ve daha sonra DNA izolasyonu sağlanarak Y kromozom delesyonları araştırıldı. Bu çalışma iki aşamada gerçekleştirildi.

1. Konvansiyonel Sitogenetik Analiz safhası

Örneklerin Alınması:

Periferik kan örnekleri venöz kandan; 0,1 ml heparin(5.000 IU / ml) çekilmiş bir enjektöre 2-3 ml olarak alındı. Alınan kan, steril koşullarda en geç 2 saat içerisinde, 5 ml' lik besi yeri içerisinde 7-10 bin lökosit olacak şekilde, 72 saatlik kapalı hücre kültürleri yapıldı. 37 ^{o}C'ye ayarlı kuru etüvde 72 saat inkübe edildi. Kültürde kullanılan solüsyonlar tabloda gösterilmiştir(Tablo V).

Tablo V: Hücre kültür besiyerleri hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve oranları

Malzeme	Konsantrasyon	Miktar
RPMI 1640(Sigma)	-	100 ml
Fetal Kalf Serum(Seromed)	-	20 ml
Penicilline / Streptomycine(Sigma)	10.000 IU/ml + 10.000 µg/ml	1 ml
L-Glutamin(Sigma)	200 mM	1 ml

Çıkarım:

72 saatlik hücre kültürüne, süre bitimine 1,5 saat kala (70,5 saatte) Colcemide (Demecolcine; Seromed)'den 0,1 µg/ml olacak şekilde eklendi. Sürenin bitiminde çıkarım işlemlerine geçildi.

Çıkarım işlemleri; Bu işlem esnasında santrifüj basamağında tüpler 600 g 'de 10 dakika (dk) santrifüj edildi.

- Plastik pastör pipetleri ile supernatan kısımı uzaklaştırıldı. Dipteki pellet üzerine taze hazırlanmış ve 37 °C'deki hipotonik solüsyondan (KCI, 560 mg/dl veya 0,075 M) 5 ml eklendi. 37°C'de 20 dk inkübasyon yapıldı. Santrifüj edildi. supernatan kısımı uzaklaştırıldı

- Taze hazırlanmış ve +4 °C'de bekletilen 3:1 oranda hazırlanmış metanol: asetik asit karışımından damla damla kondu. Bu aşamada en az 3 saat veya bir gece +4 °C'de bekletildi. Santrifüj edildi. Süpernatan kısmı atıldı.

- Taze tespit solusyonundan bu işlem 2 kez daha tekrar edildi.

- Yıkanmış ve +4 °C'de distile suda bekletilen lamlar üzerine, dipteki pelet damla damla yayıldı ve G-Bantlama için kurumaya bırakıldı.

Konvansiyonel Sitogenetik Analiz Amaçlı Boyama İşlemi

Giemsa-Tripsin Bantlama (GTG-Bantlama)

- Tripsin solüsyonu her seferinde taze olarak hazırlandı. 80 ml PBS içerisine 40 mg tripsin (1 / 250' lik toz tripsin, Difco) eklendi.

- Preparatların tripsin işlemine tabi tutulması: 72 saat açık havada kurutulan preparatlar tiripsin solüsyonunda 8-10 saniye tutuldu ve distile suda yıkandı.

- Tripsin işlemine tabi tutulan preparatlar söransan tamponunda hazırlanan boya içerisinde 6-8 dk tutularak boyandı.

- Boyama sonrası distile suda yıkandı ve kurutuldu. Preparatlar kurutulduktan sonra uzun süre saklanabilmesi ve gerektiğinde arşivlemek amacı ile yapıştırıcı özelliği olan entellan (Merck) damlatılarak lamel ile kapatıldı .

- Nikon marka ışık mikroskobunda en az 20 metafaz plağı incelendi ve fotoğrafları çekilerek karyotip analizi yapıldı.

2. Mikrodelesyon Bakılması Safhası:

a. DNA izolasyon safhası:

Bu amaçla kolon yöntemi kullanılmıştır. Her hasta için 1.5 ml'lik eppendorf tüp alındı. Her tüpe 20 μl proteinase-K konuldu. Tüpler 200 ml lysis solusyonu eklendi. Tüpler vortekslendi. Üzerine 500 μl colon presipitasyon solüsyonu konuldu. Tüpler 1300 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. 10 dakika sonra tüplere 200 μl %100 etanol katıldı. Kolonlu tüpler 1100 rpm'de 1 dk santrifüje edilip üzerlerine 500 μl Wash solusyonu eklendi. Yine 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Kolon üzerine 200 ml Elution solusyonu kondu. Kolon atıldı. Geride tüpte kalan sıvı DNA % 2 jelde yürütülüp kontrolü yapıldı.

b. PCR yöntemiyle Mikrodelesyon Bakılma safhası:

Genetik çalışmada karyotip analizi 46 XY olan hastalar, bu kez Y kromozomundaki AZF(Azospermik Faktör) genindeki a, b, c lokusları mikrodelesyon varlığı yönüyle incelendi.

AZF'yi belirlemek için laboratuvarda kullanılan yöntemler;

Biz çalışmamızda AB ANATİLİCA yöntemini kullandık. Bu yöntemde Y kromozomu üzerinde daha önceden haritalanan ve aranılan mikrodelesyonları içeren genetik bölgeler PCR (Polimerase Chain Reaction) ile çoğaltıldı. % 2,5 agar 9:1 TBE elektroforezinde PCR ürünlerinin varlığı yada yokluğuna göre mikrodelesyonlar belirlendi. PCR reaksiyonu, Y kromozomunda yer alan nonpolimorfik kısa DNA segmentlerinden seçilen 9 ayrı primer dizisi ile üretici firma tarafından hazırlanan 3 ayrı PCR reaksiyonu karışımını içeren 'multiplex PCR' tekniği ile yapıldı.

Multiplex PCR'da kullandığımız primer karışımlar şunlardır;

- Mix 1: Sy 254, Sy 255, Sy 86, Sy 127
- Mix 2: Sy 117, Sy 125, Sy 95
- Mix 3: DBY,DFFR

Her bir multiplex, çoğaltma reaksiyonunun çalışıp çalışmadığının kontrol amacı ile SRY lokusunu çoğaltmak için hazırlanan kontrol primer dizisini de içermektedir.

SRY kullanılması sayesinde;

- DNA'nın iyi kalite de olup olmadığını kontrol etme

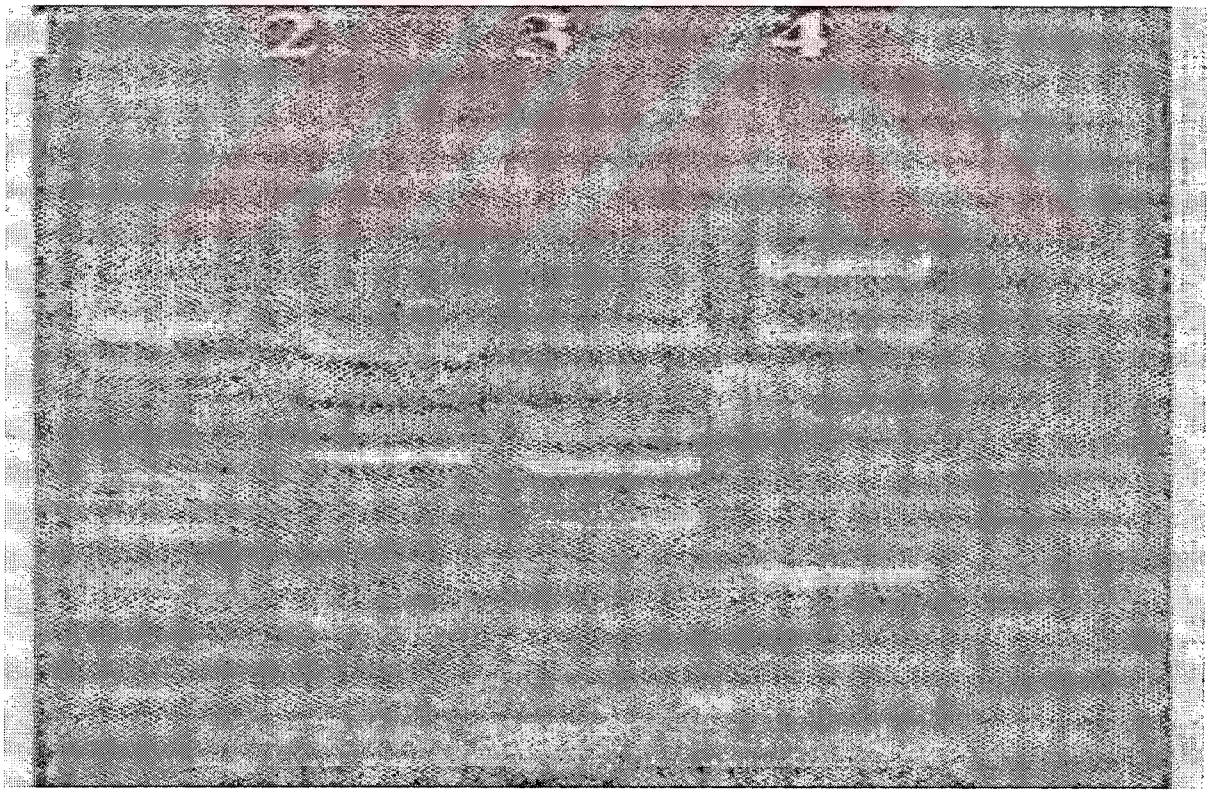
- PCR inhibitörlerinin yokluğunu doğrulamak

- Yanlış pozitif sonuçların üretimini garanti altına almak sağlanır.

Hasta örnekleri ile beraber negatif kontrol olarak genomik DNA içermeyen, pozitif kontrol olarak erkek genomik DNA'sı 3 PCR miksi ile çalışıldı.

PCR karışımı; 6 µl hasta/kontrol genomik DNA'sı, 1 µl. Taq polimeraz ve 10 µl Multiplex master miksten oluşmaktadır. PCR termal cycler cihazında 35 kez siklüs tekrarlandı. Denaturasyon 94 derecede 5 dakika, primer bağlanması 94 derecede 60 sn, 56 derecede, 65 derecede 60 sn ve 65 derece de 7 sn bir dk DNA sentezi yapıldı. PCR ürünleri Nusieve agarda 1X TBE tamponu içerisinde 2 µ 6X Blue-orange yükleme boyası ilave edilerek marker ile beraber yürütüldü.. Transilluminometre cihazında 320 nm'de jeller polaroid kamera ile görüntülendi(Resim 1).

Resim 1: Normal bir erkekte AB analitika yöntemiyle elde edilmiş AZF bölgeleri



Mix'ler birincisi marker olmak üzere sütün denen 4 kuyucuğa yüklendi. 1. sütun marker sütunudur. 2. sütun Mix 1'i gösterir ve bu alanda Sy 254, Sy 255, Sy 86, Sy 127 olmak üzere 4 primer kullanıldı. 3. sütun Mix 2'ye ait sütundur ve burada Sy 117, Sy 125, Sy

95 olmak üzere 3 primer kullanıldı. 4. sütun Mix 3'ü gösterir ve DBY, DFFR genlerini içeren 2 primer kullanıldı.

Resimdeki 1.sütun belli bir molekül ağırlıklarına genomik DNA içeren marker sütunudur ve bu sütunda yüklenen DNA sayısı kadar bant ortaya çıkmıştır. Bu hastada 1'i SRY olmak üzere 8 bant oluşmuştur. Tüm kuyucuklarda yani sütunlarda kontrol bandı olarak SRY kullanılır. Normal sağlıklı bir erkekte 2. sütunda SRY ile beraber Mix 1'deki 4 bantla beraber toplam 5 bant oluşmalıdır. 3. sütunda ise SRY kontrol geniyle beraber Mix 2'deki 3 bantla beraber 4 bant meydana gelmelidir. 4. sütunda SRY ile beraber Mix 3'deki 2 bantla beraber 3 bant oluşmalıdır. Yani PCR sonucunda normal sağlıklı bir erkekte 1.sütunda 8, 2.sütunda 5, 3.sütunda 4 ve 4.sütunda 3 bant oluşmalıdır(Tablo VI). Aksi halde oluşmamış bant kadar mikrodelesyonun varlığı anlaşılmalıdır. Mix'lerdeki her bir primer, kendi molekül ağırlığıyla ters orantılı olacak şekilde jelde yürür. Hafif moleküller daha hızlı ilerlerken ağır bir primer ise jelde daha yavaş ilerler. Buna göre resimde tüm misklerdeki primerler yürüyüp kendi sayısı kadar bir bant oluşturduğu için bu hastada AZF mikrodelesyonu yoktur.

Tablo VI: Elde edilen normal AZF genlerindeki görüntülerin anlamları

PCR görüntüsü	**1.sütun**	**2.sütun**	**3.sütun**	**4.sütun**
Kuyucuk	Marker	Mix 1	Mix 2	Mix 3
Primer içeriği	Değişik genomik yapılarda	Sy 254 Sy 255 Sy 86 Sy 127	Sy 117 Sy 125 Sy 95	DBY DFFR
Primer sayısı	Değişik sayıda	4	3	2
Bant sayısı	Değişik sayıda	5	4	3

Hastaların spermiogram parametreleriyle serum hormon seviyeleri, testis çapları ve genetik çalışma ile elde edilen mikrodelesyon oranları karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

26 ay boyunca süren çalışmamıza konu olan 60 hastanın yaşları 22 ile 38 arasında değişmekteydi. Yaş ortalaması 29.2 idi. Gruplar arasında yaş ortalaması için anlamlı fark yoktu($p>0.05$).

1.Çalışmaya alınan gruplardaki hastaların serum E_2, FSH, LH, fT, tT, Pro seviyeleri ile testis çapları aşağıdaki gibi belirlendi.

Azoospermik grup(Grup I) için;

E_2 : 28.24±26.28 pg/mL

FSH: 12.88 ±10.22 mIU/mL

LH: 6.21± 4.45 mIU/mL

Pro: 8.7± 5.2 ng/mL

fT: 36.71± 17.26 pg/mL

tT: 441.30 ±168.33 ng/dL

Sağ testis çapları: 43.87 ±9.13 mm

Sol testis çapları: 42.00 ±8.91 mm

Ağır oligospermik grup(Grup II) için;

E_2 : 39.50±63.45 pg/mL

FSH: 8.66±5.43 mIU/mL

LH: 4.95± 2.52 mIU/mL

Pro: 9.4± 5.9 ng/mL

fT: 12.55± 6.03 pg/mL

tT: 454.80±266.47 ng/dL

Sağ testis çapları: 50.7±9.48 mm

Sol testis çapları: 50.80±10.55 mm

Hafif oligospermik grupta(Grup III);

E_2 : 20.00±0.01 pg/mL

FSH: 7.190±4.43 mIU/mL

LH: 4.65±1.180 mIU/mL

Pro: 7.6±4.1 ng/mL

fT: 14.64±4.48 pg/mL

tT: 396.54±154.97 ng/dL

Sağ testis çapları : 51.00±6.63 mm

Sol testis çapları: 51.50±5.76 mm

Normospermik(fertil) grupta(Grup IV) ise;

E_2 : 20.50±1.58 pg/mL

FSH: 8.15±1.73 mIU/mL

LH: 5.20±1.53 mIU/mL

Pro: 10.5±2.1 ng/mL

fT: 18.46±6.54 pg/mL

tT: 358.80±105.96 ng/dL

Sağ testis çapları: 52.00±3.68 mm

Sol testis çapları: 54.10±5.38 mm

Bu verilerden elde edilen serum hormon düzeyleri, testis çapları ve spermiogram parametreleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir ilişki saptanamadı(p>0,05)((Tablo VII).

Tablo VII: Hormon değerleri ve testis çaplarının semen parametreleriyle ilişkisi

	Azoospermi		Ağır Oligospermi		Hafif Oligospermi		Normospermi(Kontrol)		p değeri
	Ortalama	S. S*	Ortalama	S. S*	Ortalama	S. S*	Ortalama	S. S*	
$E_{2\ (pg/mL)}$	28,24	26,28	39,5	63,45	20,0	0,01	20,50	1,58	0.6
FSH (mIU/mL)	12,8	10,22	8,6	5,43	7,19	4,43	8,15	1,73	0.7
LH (mIU/mL)	6,21	4,45	4,9	2,52	4,650	1,80	5,20	1,23	0.18
Pro (ng/mL)	8,7	5,2	9,4	5,9	7,6	4,1	10,5	2,1	0.07
tT (ng/mL)	441,3	168,33	454,8	266,4	396,9	154,9	358,8	105,9	0.9
fT (pg/mL)	36,71	107,26	12,55	6,03	14,640	4,88	18,46	6,54	0.18
Sağ testis çapı (mm)	43,87	9,13	50,70	9,48	51,00	6,63	52,00	3,68	0.09
Sol testis çapı (mm)	42,00	8,91	50,80	10,15	51,10	5.76	54,10	5,38	0.07

2. Genetik değerlendirilmede ise; 7 AZF mikrodelesyonu saptandı. Bu hastaların 6 tanesi azoospermik 1 tanesi ağır oligospermikti. Hafif oligospermik 10 hastada ve normospermik 10 erkekte Y kromozomunda AZF mikrodelesyonları saptanamadı. Mikrodelesyon oranı tüm hastalar için % 11.66, infertil 50 hasta için % 14, ağır oligospermik 10 hasta için % 10 ve azoospermik 30 hasta için % 20 olarak hesaplanmıştır. Yani sperm sayısı azaldıkça AZF mikrodelesyon oranı artmıştır(Tablo VIII). Gruplar arası yapılan istatistiki çalışmada fark anlamlı bulundu(p=0.018).

Tablo VIII : Sperm sayılarına göre AZF mikrodelesyon varlığı

		AZF negatif		AZF pozitif		
		Sayı	%	Sayı	%	Gruplar arası p değeri
Azoospermi	n=30	24	80,0	6	20,0	
Ağır Oligospermi	n=10	9	90,0	1	10,0	
Hafif Oligospermi	n =10	10	100,0	0	0	
Normospermi	n=10	10	100,0	0	0	
Toplam	n=60	53	88,3	7	11,7	**0.018**

AZF pozitif 7 hastanın mikrodelesyon bölgelerine baktığımızda 12 adet delesyon gözlenmiştir. Azoospermik grupta AZFb, AZFc ve AZFa bölgelesinde sırasıyla 5, 4 ve 2 adet mikrodelesyon saptanmıştır. En sık defektif bölge AZFb'dir. AZFa ise en az görülen mikrodelesyon alanıdır. Ağır oligospermik bir hastada görülen delesyon AZFc bölgesindedir(Tablo IX). Ancak tüm infertil hastaların değerlendirilmesinde ise 12 delesyonun 5'i AZFb'de ve 5'i de AZFc'de görülüp delesyonların AZFb ve AZFc'de eşit oranlarda ortaya çıktığını gördük.

Tablo IX: AZF alt gruplarındaki delesyonların hasta gruplarıyla ilişkisi

	Azoospermi	Ağır oligospermi	Hafif oligospermi	Normospermi
AZFa	2	-	-	-
AZFb	5	-	-	-
AZFc	4	1	-	-

Tüm hastalara baktığımızda 5 hastada AZFb mikrodelesyonu tespit edildi. Bunların 2 tanesi pür AZFb delesyonuydu. Diğer iki AZFb delesyonu, AZFa+c ile kombineydi. Bir hastada ise AZFb delesyonu yalnız AZFc ile beraber idi. AZFb delesyonu olan hastalarda Sy117, Sy 125 ve Sy 127 alellerinde parsiyel veya total mikrodelesyonlar vardı.

AZFc delesyonları da tüm hastalar arasında 5 kez tespit edildi. Bunlardan 2'sinde AZFc delesyonu pür olarak bulunurken 2 hastada ise AZFa+b ile kombineydi. Diğer bir AZFc delesyonu ise sadece AZFb ile beraberdi. AZFc delesyonları olan hastalarda DAZ geninde Sy254, Sy255, cdy, bpy2, Sy277 alellerinde parsiyel veya total mikrodelesyonlar mevcuttu.

AZFa mikrodelesyonu ise iki hastada tespit edildi ve her ikisinde de AZFb+c ile kombineydi. Pür AZFa delesyonu tespit edilemedi. AZFa delesyonlu hastalarda ise Sy86, USP 9 y geninde DFFRY, DEAD Box geninde DBY, Sy 95 alellerinde parsiyel veya total mikrodelesyonlar mevcuttu(Tablo X).

3. AZF mikrodelesyonu tespit edilen ve edilmeyen hasta grupları, biokimyasal parametrelerle ve testis çaplarıyle karşılaştırıldı. AZF negatif ve pozitif olan hastaların serum hormon düzeyleri ve testis çapları arasında serum FSH düzeyi hariç diğer parametrelerdeki ortalama değerler arasında istatitiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmemiştir. FSH için p değeri **0.001** iken diğer parametrelerin p değerleri > 0.05 idi. AZF mikrodelesyonu olan hastalarda serum FSH düzeyinin anlamlı oranda yükseldiği tespit edildi (Tablo XI).

4. Çalışmamızda infertil ve fertil hastaların serum hormon parametreleri ile testis çapları ayrı ayrı karşılaştırıldı(Tablo XII). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilemedi($p>0.05$). Bunlardan E_2 için p değeri 0.7, LH için p değeri 0.9, FSH için 0.9, total testosteron için 0.13, serbest testosteron için 0.07, sağ testis çapları için 0.058, sol testis için 0.053 olarak belirlendi. Fertilite durumunun serum hormon düzeyleri ve testis çapları arasında istatistiki ilişki yoktur.

Tablo X : Mikrodelesyonların AZF geninde yerleşim yerleri

Hasta No	Spermiogram	AZF Delesyonu	Delesyon Alelleri
1	Azoospermi	AZF b	Sy 117 Sy 125 Sy 127
2	Azoospermi	AZF c	DAZ geninde Sy 254 Sy 255
3	Azoospermi	AZF a	Sy 86 USP9 Y geninde DFFRY DEAD Box geninde DBY Sy 95
		b	Sy 117 Sy 125 Sy 127
		c	DAZ geninde Sy 254 Sy 255
4	Azoospermi	AZF a	Sy 86 USP9 Y geninde DFFRY DEAD Box geninde DBY Sy 95
		b	Sy 117 Sy 125 Sy 127
		c	DAZ geninde Sy 254 Sy 255
5	Azoospermi	AZF b	Sy 125 Sy 127
		c	DAZ geninde Sy 254 Sy 255
6	Azoospermi	AZF b	Sy 117 Sy 125 Sy 127
7	Ağır Oligospermi	AZF c	DAZ geninde Sy 254 Sy 255

Tablo XI: AZF delesyonu olup olmamasına göre hormon ve testis çaplarının karşılaştırılması

	AZF negatif			AZF pozitif			
	n	Ortalama	S.S	n	Ortalama	S.S	P değeri
$E_{2\ (pg/mL)}$	53	26,51	30,92	7	34,614	37,9985	0,9
FSH (mIU/mL)	53	9,243	7,32	7	19,514	8,4474	**0,001**
LH (mIU/mL)	53	5,431	3,5241	7	6,657	2,7024	0,2
Pro (ng/mL)	53	9,375	3,125	7	10,658	5,112	0,3
tT (ng/mL)	53	413,30	180,324	7	491,29	140,025	0,2
fT (pg/mL)	53	27,034	80,7196	7	17,871	19,8213	0,4
Sağ testis çapı (mm)	53	48,30	8,604	7	41,86	8,745	0,056
Sol testis çapı (mm)	53	47,94	9,181	7	39,86	9,720	0,059

İSTATİSTİKİ ANALİZ

İstatistiksel Analiz Metodu

Gruplar arası sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney Testi, kategorik değişkenlerin analizinde ise ki-kare testi kullanıldı. $p < 0,05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo XII: Fertilite durumu ile diğer parametrelerin karşılaştırılması

	İnfertil Grup			Fertil Grup			
	n	Ortalama	S.S	n	Ortalama	S.S	p değeri
$E_{2\ (pg/mL)}$	50	28,84	34,4625	10	20,500	1,58	0,7
FSH (mIU/mL)	50	10,90	8,7767	10	8,150	1,73	0,9
LH (mIU/mL)	50	5,649	3,7353	10	5,200	1,23	0,9
Pro (ng/mL)	50	8,956	4,2584	10	9,189	5,635	0,3
tT (ng/mL)	50	435,12	186,073	10	358,80	105,96	0,13
fT (pg/mL)	50	27,466	83,3764	10	18,460	6,54	0,07
Sağ testis çapı (mm)	50	46,66	9,264	10	52,00	3,68	0,058
Sol testis çapı (mm)	50	45,58	9,571	10	54,10	5,384	0,053

TARTIŞMA

İnfertilite tedavisinin tıbbi yönü kadar psikolojik, ekonomik, fiziksel ve zaman boyutu da mevcuttur. Bu sebeple infertilite tedavisi uygulamalarında yukardaki unsurlar da göz önünde bulundurulmalı ve hasta için daha az yıpratıcı, daha az maliyetli, daha az invazif ve daha az zaman gereken yöntemler kullanılmalıdır.

Genetik testler ömür boyu bir kez yapılmakta, hekimin teşhis ve tedavisini yönlendiren çok değerli bilgiler vermektedir. Bu bilgiler sadece hastayı değil yakınlarını da ilgilendirmekte, ailenin taşıyıcılık durumları incelenerek sonraki nesillerde pek çok hastalığın ortaya çıkması engellenebilmekte, ömür boyu hasta ve yakınlarını maddi-manevi pek çok sıkıntıya sokabilecek üzücü durumları önceden belirleme ve ortadan kaldırma şansı verebilmektedir. Zamanında yapılmış bir genetik tarama veya çalışma, hasta için daha sonra yapılması muhtemel bir çok tetkikin yapılmamasına sebep olacaktır. Bu ise gereksiz araştırmalarla hastanın fiziksel ve psikolojik olarak yıpranmasını önlerken aynı zamanda ekonomik açıdan da büyük bir kaybın önüne geçmektedir.

Bundan yaklaşık 10-15 yıl önce kromozom anomalisi ve mikrodelesyonları olan hastalarda fertilite mümkün değilken, bugün için gelişen teknolojiyle beraber Testiküler Sperm Ekstraksiyonu(TESE) ve İntrastoplazmik Sperm İnjeksiyonu(ICSI) yöntemleriyle bu hastalar değişik oranlarda çocuk sahibi olabilmektedir. Ancak bu durumda da kromozom anomalilerinin doğacak çocuğa aktarılması gibi başka tıbbi sorunlarla karşı karşıya kalınmıştır. Bunun için son yıllarda genetik danışmanlığı sıkça konuşulur hale gelmiştir.

İdiopatik infertilitesi olan erkeklerin % 3-45'inde Y kromozomunun uzun kolunda(Yq) bulunan AZF bölgelerinde mikrodelesyonlar saptanmıştır(12,13,14). Bu yüksek oranlar, idiopatik intertil erkeklere TESE+ICSI uygulanmasından önce AZF mikrodelesyonlarının incelenmesi ve aileye bu konuda genetik danışmanlık verildikten sonra işlemin gerçekleştirilmesi gerektiğinin daha etik olduğunu göstermektedir. Page ve arkadaşları, 1999 yılında ICSI ile erkek çocuk sahibi olan ve AZFc delesyonu saptanan 3 erkeğin çocuklarının da bu delesyonu taşıdığını bildirmiştir. Mikrodelesyonu babasından alan erkek çocuk aynı infertilite problemini yaşayacaktır.

ICSI fetüslerinde seks kromozom anomalisi oranı ise yaklaşık % 1 olarak bildirilmiştir(79). Bu oran, doğal yolla elde edilen gebeliklerde ortaya çıkan değerin 4 katıdır. Aynı zamanda trizomi 18 ve trizomi 21'ler de sıkça bildirilmiştir(78). Yine resiprokal transformasyonlar, anöploid çocuk meydana gelmesi için en yüksek riskli hasta grubunu

oluşturmaktadır(80). Bu anlamda 'tüm meselemiz, kullanmak için spermlerin bulunmasıdır' anlayışı doğru değildir.

İnsan spermatogenezini etkileyen faktörler arasında genetik nedenler % 30'luk bir oranı oluşturmaktadır. Y kromozomu mikrodelesyonları spermatogenetik bozuklukların en sık nedenidir. İdiopatik azoospermide % 15-20, idiopatik oligospermide % 7-10 arasında sorumludur(9,10,11). Bu hastalar için günümüzde tedavi olarak sunulan ICSI ile elde edilen gebelikler sonucunda meydana gelen erkek çocuklarda fertilite problemi daha yüksek oranda beklenecektir. Ayrıca işleme bağlı da bir takım genetik riskler mevcuttur(80). Y kromozomunun yapısı itibariyle, mikrodelesyonlarında infertilite dışında başka patoloji görülmesi nadirdir.

Literatür incelenmesinde mikrodelesyon çalışmalarında belki de en dikkat çekici kısım mikrodelesyon oranlarındaki belirgin farklılıklardır(81,82)(Tablo XI).

Tablo XI: Değişik çalışmalarda elde edilen mikrodelesyon oranları

Kaynak/Araştırıcı	İncelenen hasta	Delesyon oranı (%)	Ülke
Vander Ven ve ark..	204	1	Belçika
Krausz ve ark.	134	2.2	Danimarka
Kent-First ve ark.	32	3,1	Almanya
Vogt ve ark.	370	3,5	Almanya
Reijo ve ark.	35	5,7	ABD
Pyror ve arkadaşları	200	7	ABD
Seifer ve ark.	53	9.4	Fransa
Stuppia ve ark.	126	11.1	İtalya
Lin Y.M ve ark.	94	11.3	Tayvan
Kobayashi K ve ark.	65	15.3	Japonya
Najmabadi ve ark.	60	18,3	ABD
Vereb ve ark.	168	28,9	İngiltere
Foresta ve ark.	18	55.5	Fransa

Literatürdeki bu kadar geniş yelpazeli oran farklılıkları, çalışılan hasta gruplarının değişken özelliklerine bağlı olabilir. En göze çarpan farklılık, normospermik hastaların bazı çalışmalara alınıp bazılarında ise alınmamasıdır. Örneğin mikrodelesyon oranı en düşük bulunmuş Vander Van ve arkadaşlarının çalışmasında, toplam 204 hastanın 33'ünü normospermik grup oluşturmaktadır. Buna karşılık en yüksek mikrodelesyon oranlarını elde etmiş olan Foresta ve arkadaşları(82) ise, çalışmasını 18 hastayla tamamlamış ve hiçbir normospermik hastayı bu çalışmaya almamıştır. Yine Reijo ve arkadaşlarının çalışmaya aldıkları tüm hastalar oligospermiktir(83).

Araştırmalardaki hasta sayılarının ve spermiogram parametrelerinin grup içindeki oranlarının değişkenlik göstermesi sonucu mikrodelesyon oranları çok farklı olarak karşımıza çıkmaktadır. Oranlardaki farklılık temelde seçilen hastaların etik, klinik ve biyolojik kriterlerinin farklılığından kaynaklanmaktadır.

Hastaların çalışmaya alınma kriterleri de her çalışma için detaylı belirtilmemiştir. Hastaların klinik verileri, androlojik hikayeleri, hormonal değerlerinin bildirimi kısıtlıdır(90). Spermiogram değerleri, aynı hastada zaman zaman değişkenlik gösterebileceğinden farklı sonuçlara yol açabilmektedir. Hastaların idiopatik gruba dahil olup olmadıkları da şüpheyle karşılanmalıdır. Çünkü bazı çalışmacılar varikosel veya inmemiş testis olgularını bile idiopatik grup kabul edip çalışmasına almıştır(84).

Bunun gibi mikrodelesyon tanısında kullanılan PCR sonuçlarının doğruluğu, STS(Sequence tagged sites)'lerin sayı ve pozisyon farklılıkları da önemli olabilir. STS, PCR ile teşhis edilebilen kısa bir genomik dizidir. Genom içinde belli bir noktaya haritalanmış olup sınır taşı olarak kullanılır(85). Ancak bu konuda Simoni ve arkadaşları, kullanılan STS marker sayısı ile mikrodelesyon frekansı arasında anlamlı korelasyon bulamamışlardır. Topluluklar arası varyantlar da önemli bir faktör olarak kabul edilebilir(84). Genetik çalışmaların henüz tam olarak yaygın olarak yapılmadığı ülkemizde ve özellikle de bölgemizde, elde ettiğimiz Y kromozom mikrodelesyonları oranlarının ilerde yapılması muhtemel prevalans çalışmalarına öncülük edebileceğini düşünmekteyiz. İnfertil hastalarda elde etiğimiz % 14'lük mikrodelesyon oranları da, bölgesel olarak varyant farklılığı içersinde değerlendirilebilir.

Çalışmaya aldığımız 60 hastanın gruplamasında 30 azoospermik, 20 oligospermik hasta ve 10 normospermik erkek mevcuttu. Tüm hastalar arasında 7 AZF mikrodelesyonu saptandı(% 11.66). Tespit ettiğimiz mikrodelesyon oranı literatürdeki çok değişken rakamlar

arasında yer almaktadır. AZF pozitif hastaların 6 tanesi azoospermik 1 tanesi ağır oligospermikti. İnfertil hastalarda(n=50) mikrodelesyon oranı % 14 ve azoospermik grupta(n=30) % 20 olarak hesaplanmıştır. Ağır oligospermik grupta(n=10) ise hastaların 1 tanesinde mikrodelesyon mevcuttu ve delesyon oranı % 10'dur. Çalışmamızda AZF mikrodelesyonlarıyla sperm sayıları arasında ters bir ilişki saptanmıştır. Yani sperm sayısı azaldıkça mikrodelesyon oranı artmaktadır. Bu ilişki de istatistiksel açıdan anlamlı bulundu(p=0.018). Literatürdeki çalışmalarda da azoospermik ve ağır oligospermik hastalarda delesyonların belirgin oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu artışın azoospermik grupta, ağır olgospermik gruba oranla daha fazla olduğu görülmüştür(84).

Çalışmamızda hafif oligospermik 10 hastada ve normospermik 10 erkekte AZF mikrodelesyonları saptanamamıştır. Fertil erkeklerde de Y kromozom delesyonu varlığı literatürde gösterilmiştir. Bu oran % 0.7 ile sınırlıdır. Bunların genelde parsiyel delesyonlar olduğu görülmüştür(64). Bizim çalışmamızda ise fertil yani normospermik grupta parsiyel veya total delesyon tespit edilememiştir.

Vogt ve arkadaşları, 1996'da Y kromozom mikrodelesyonlarının birbiri ile çakışmayan belirli delesyon şekilleri izlediğini ve her bir bölgenin de belirli histopatolojik yapı ile uyumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir. AZFa'nın diğerlerine göre daha az oranda bulunduğunu ve tip I SCOS(Sertoli cell only sendromu) ile ilişkili olduğunu ve ancak ağır oligospermide görülebileceğini bildirmişlerdir. Pür AZFa delesyonları çok nadirdir ve ancak ağır oligospermi varlığında gerçekleşebilir(61,86). Bizim çalışmamızda ise azoospermik olan yedi hastanın ikisinde AZFa delesyonu tespit edildi ancak bu delesyonlar da AZFb ve AZFc ile kombineydi. Pür AZFa delesyonu saptanamadı. Dolayısıyla AZFa'nın AZFb ve AZFc ile kombine olup hastaların azoospermik olması da literatürle uyumludur.

Krausz ve Mc Elreavey ise AZFc'nin hipospermatogenez veya tip II SCOS ile ilişkili olduğunu bu nedenle de bu delesyonun görüldüğü hastalara direk olarak kriyo-TESE uygulanmasının önerilmesi gerektiğini ileri sürmüştür(86). AZFc delesyonu olan hastalarda TESE ile sperm bulunma şansı % 50'dir. Yine bu araştırmacılar AZFb delesyonu olan hastaların testis biopsilerinde spermatositik arrest tanımlamıştır. Kent-First ve arkadaşları ise AZFb'li hastalarda histopatolojik olarak matürasyon arrestini sıklıkla rapor etmiştir. Girardi ve arkadaşları ise AZFb'nin spermatositik arrestle olan ilişkisini ortaya koymuştur(63). Aynı araştırmacı grup, farklı çalışmalarında AZFb ve AZFc arasında AZFd olarak isimlendirilen bir bölgeyi daha tespit etmiştir. Bu delesyonların normospermi veya oligospermi ile beraber giden anormal morfolojili spermlerle ilişkisini göstermişlerdir.

Birden çok AZF bölgesini kapsayan mikrodelesyonlar genellikle SCOS veya ileri derecede oligospermi ile eşleşmektedir ve bu delesyonu taşıyan erkeklerin çoğunda olgun sperm hücresi bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızın patolojik komponenti olmadığı için mikrodelesyon tespit edilen hastalarımıza patolojik inceleme yapılmamıştır.

Zaman içinde progresif olarak sperm sayıları azalan oligospermik hastalarda AZFc delesyonu önem kazanmaktadır(63). Sekonder infertiliteye de yol açabilmesi yönüyle bu hastalara ilerleyen zamanlarda yardımcı üreme teknikleri uygulanabileceği düşüncesiyle bir an önce kriyoprezervasyon önerilmelidir. Çalışmamızda hastalarımızın tamamı primer infertil olduğu için böyle bir yönlendirme yapılmamıştır. Önceden çocuk sahibi olmuş sekonder infertiliteli hastalar, progresif olarak sperm parametrelerinde bozulmaya yol açan AZFc delesyonu yönüyle dikkatli incelenmelidir.

Literatürde en sık rastlanan delesyon tipi AZFc ve AZFb'dir(61). Bu oranlar bizim çalışmalarımızla da desteklenmiştir. Bizim çalışmamızda da en sık olarak AZFb ve AZFc delesyonu varlığı tespit edilmiştir. Saptanan 12 delesyonun 5'i AZFb, 5'i AZFc idi.

İster kombine ister tek başına olsun; AZFb delesyon varlığı, TESE için kötü prognoz nedenidir. AZFb'deki patoloji, ilgili fenotip farklılaşmasının spermatosit veya spermatid gibi çok erken basamaklarda durmasıdır(62). TESE yapılan 181 hastanın 11 tanesinde AZFb bölgesini kapsayan mikrodelesyonu saptandığı hastaların hiçbirinde TESE sonucu sperm bulunamadığı rapor edilmiştir(91). Pür AZFb delesyonu veya geniş tabanlı AZF delesyonları varlığında matür spermatozoa tespit etme şansı neredeyse sıfırdır.(62). Buradan hareketle biz de AZFa+b+c delesyonu olan iki hastamıza ve pür AZFb delesyonu mevcut bir hastamıza bu yönde bilgilendirme yaparak, bu kişilerin fazladan ve gereksiz beklentilere girmemesi sağlanmıştır.

Çalışmalarımızda serum FSH düzeylerinin AZF mikrodelesyonu pozitif olan hastalarda anlamlı derecede yükseldiği tespit edilmiştir($p=0.001$). Buna karşılık delesyonların serum testosteron, LH, prolaktin ve Estradiol hormonlarıyla ve testis çaplarıyla aralarında istatistiki anlamlılık bulunamamıştır. Literatürde de Danimarka kökenli yapılan iki çalışmada Kreusz ve McElreavey ile Frydelund–Larsen ve arkadaşları da tüm AZF mikrodelesyonlu hastalarda serum FSH değerini yüksek bulmuşlardır(86,87). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise serum FSH düzeyi ile mikrodelesyon varlığı arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır(89).

Girardi ve Mielnic'in 1997 yılında yaptığı çalışmada, sperm parametreleri ile serum hormon değerleri ve testis çapları arasında ilişki gösterilememiştir(63). Aynı şekilde yurt içinde yapılan 28 infertil erkek hastayı içeren bir çalışmada da bu parametreler arasında anlamlı korelasyon sağlanamamıştır(88). Bu nedenle hormon düzeyleri ve testis çapları ile infertil hasta spermiogramları arasında kesin bir ilişki olduğu kabul edilmemiştir. İdiopatik infertilite tanısında ve değerlendirilmesinde azoospermik grup dışında serum FSH düzeyi hariç serum hormon düzeylerinin tespit edilmesi ve testis çaplarının ölçülmesi klinisyene sınırlı bilgiler vermektedir.

Sonuçta; uygun olarak seçilmiş hastalarda Y kromozom delesyonlarının ortaya konulması hem diagnostik hem prognostik hem de koruyucu öneme sahiptir.

SONUÇLAR

Çalışmamıza aldığımız idiopatik erkek infertil hastaların ve fertil erkeklerin laboratuvar verileri, genetik çalışma sonuçları ve klinik takipleri toplandı. Gruplar arası sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney Testi, kategorik değişkenlerin analizinde ise ki-kare testi kullanıldı. $p< 0,05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Literatür yeniden gözden geçirildi. Çalışmamızın sonunda elde edilen verilere göre idiopatik infertil erkek hastalarda yüksek oranlarda Y kromozom mikrodelesyonları saptandı(%14). Mikrodelesyonların tespit edilmesi spermiogram grupları ile $p=0.018$ olacak şekilde koreledir. Serum FSH düzeyleri $p=0.001$ olacak şekilde azoospermik grupta yüksekti. Bu istatistiki değerler göz önüne alındığında çalışmadan şu önemli sonuçlar elde edilmiştir:

A:Genel Sonuçlar

1) Erkek infertilitesi multidisipliner yaklaşım gerektiren bir patolojidir. Sadece sperm parmetreleri göz önüne alınarak yapılan işlemler eksiktir. Mutlaka genel bir değerlendirmeye ihtiyaç vardır.

2) Erkek infertilitesinde hastanın idiopatik grupta olup olmaması, genetik çalışma için önemli bir kriterdir. İdiopatik gruptaki hastalarda genetik çalışmaya öncelik verilmelidir. İdiopatik infertil erkek hastalarda genetik defekt tespit etme oranı yüksektir. Bu hastalarda sperm sayıları azaldıkça özellikle Y kromozom mikrodelesyonları artmaktadır. Eğer hasta azoospermik ise bu oran en üst düzeydedir.

3) Erkek infertilitesi etiyolojisinin belirlenmesi ve tedavisi pahalı ve uzun bir süreçtir. Dolayısıyla en kısa yoldan ve en az tetkikle bu süreç tamamlanmalıdır.

4) İnfertil hastaların tedavisinde hastaların beklentileri öğrenilmelidir ve psikolojik açıdan tatmin edici, ancak doğru bilgiler içeren bilgilendirme yapılmalıdır. Bu açıdan hastalar gereksiz beklentilere sokulmamalıdır.

5) Ülkemizde Yardımcı Üreme Teknikleri(YÜT) ile infertilite tedavilerinin ekonomik maliyeti yüksektir. Bu nedenle tespit edilen Y kromozom mikrodelesyonlarının YÜT'ne uygun olup olmadığı hakkında aileye bilgiler verilmeli ve eğer hastadaki mevcut patoloji hiçbir şekilde fertiliteye imkan vermiyorsa hastanın gereksiz masraflara girmesi önlenmelidir. Bu anlamda özellikle AZFb delesyonları ve komplet delesyonlar varsa hastaya bu konuda net bilgiler verilmelidir.

6) Günümüz teknolojisinde infertil erkek hastaların çoğunun YÜT'ne yöneldiği bilinerek elde edilecek gebeliklerde genetik materyalin aktarılması yoluyla, doğacak bebeğin de genetik açıdan taşıyacağı riskler tümüyle eşlerin bilgisine sunulmalıdır.

7) Fakültemiz Genetik Anabilim Dalına bağlı faaliyet gösteren Genetik laboratuvarının hizmete girmesi henüz çok yenidir ve bölgemizde genetik çalışma yapan başka bir merkez de yoktur. Bu nedenle bölgemizde erkek infertilitesinin azoospermik grubunda genetik testlerle desteklenmiş istatistiki başka bir çalışma da yapılmamıştır. Bu yönüyle çalışmamız, ilerde daha geniş serilerle yapılacak olan prevalans çalışmalarına öncülük edebilmesi açısından bir ilk olma özelliğini taşımaktadır.

B: İstatistiki Sonuçlar

1) Fertil grupta AZF mikrodelesyonları saptanmamıştır. Mikrodelesyon tespit edilse bile bunun klinik anlamlılığı halen tartışmalıdır. Ancak fertil hastalarda spermiogram parametrelerindeki progresif bozulmalar klinisyeni AZFc delesyonunun varlığı için kuşkulandırmalıdır.

2) En fazla AZF mikrodelesyonları azoospermik grupta tespit edilmiştir(% 20). Azoospermik hastalar Y kromozomlarındaki mikrodelesyon yönüyle mutlaka genetik olarak araştırılmalıdır. Bu grupta en çok AZFb delesyonu görülmüştür.

3) Ağır oligospermik grupta ise daha az oranda Y kromozom mikrodelesyonları saptanmıştır(% 10). Özellikle spermiogram parametrelerinin 5 milyon/ml'nun altındaki durumlarda genetik çalışma mutlaka yapılmalıdır. Bu grupta en sık AZFc delesyonu tespit edilmiştir.

4) Hafif–orta oligospermik hastalarda AZF mikrodelesyonu saptanmamıştır. Buna göre hafif-orta oligospermili hastalara genetik çalışma yapmak mutlaka gerekli değildir.

5) Sperm parametreleri bozuldukça ve özellikle azoospermiye gidildikçe Y kromozom mikrodelesyonu oranı ve dolayısıyla genetik çalışma yapma gereksinimi artmaktadır. Sperm sayısı ile AZF mikrodelesyon saptanması ters orantılıdır. Sperm sayısında giderek azalma gösteren ve sekonder infertil hastalar özellikle AZFc mikrodelesyonu yönüyle dikkatlice incelenmelidir.

6) Erkek infertilitesinde sıkça kullanılan hormon çalışmaları, klinisyene ne yazık ki sınırlı oranda yol göstericidir. Bu nedenle erkek infertilitesinde özellikle de oligospermik grupta hormonal çalışmaların sıklıkla kullanılması gereksizdir. Özellikle bu çalışmaların maliyeti

göz önüne alındığında, hormonal tetkiklerin seçilmiş vakalarda yapılması faydalı olacaktır. Azoospermi olmadan yalnız infertil gruptaki serum hormon düzeyleri fertil hastalara göre önemli fark oluşturmamaktadır ve azoospermisiz infertil erkek hastalardaki tanı değerleri sınırlıdır. Azoospermik grupta bile serum FSH düzeyi hariç hiçbir hormonal çalışma anlamlı bulunamamıştır. İdiopatik erkek infertilitesinde hormonal çalışmalar için en ideal grup azoospermik hastalardır.

7) AZF mikrodelesyon oranları ile serum FSH düzeyleri arasında ise anlamlı bir ilişki gösterilmiştir. Azoospemik hasta grubunda özellikle serum FSH düzeyleri anlamlı derecede yüksektir. İnfertilite ile başvuran bir hastada azoospermi ve serum FSH yüksekliğinin beraber bulunması Y kromozomunda AZF mikrodelesyonlarının varlığını sıkça düşündürmelidir.

8) Sonuç olarak; infertilite sorunu olan ve nedeni ortaya konamamış idiopatik hasta grubunda hormonal çalışmanın yararı tartışmalıdır. Buna karşılık genetik çalışma (özellikle de Y kromozom mikrodelesyonu araştırması) mutkaka yapılmalıdır. Genetik çalışma sonunda Y kromozom mikrodelesyonu saptanmışsa önce bunun alt grubu belirlenmelidir. Belirlenen AZF mikrodelesyon tipine göre YÜT ile çocuk sahibi olabilme şansı aileye anlatılmalıdır. Aile YÜT'leri ile tedaviyi kabul ederse bu tedavilere bağlı olarak hastalıklı genetik materyalin aktarılması yoluyla oluşabilecek sorunlar aileyle konuşulmalıdır ve genetik danışmanlık verilmelidir. Bu açıdan Y kromozom mikrodelesyonlarının ortaya konulması, hem diagnostik hem prognostik hem de koruyucu öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

1. R. Lilford, A.M. Jones, D.T. Bishop, J. Thornton and R. Mueller , Case control study of whether subfertility in men is familial. BMJ 309 (1994), pp. 570–573

2. Hendry WF,Polani PE,Pough RC,et al 200 infertile males :Correlation of chromosome ,histological,endocrine and clinical studies.Br J Urol 1975;47:899-908

3. Chandley AC:The chromosomal basis of human infertility. Br Med Bull 1979;35:181-186

4. Ratief AE,van Zyl JA,Menkveld R,et al:Chromosome studies in 496 infertilite males with a sperm count below 10 million/ml.Hum Genet 1984;66:162-164

5. Bourrouillou G,Bujan L,Calvas P,et al: Role and contribution of karyotping in male infertrility.Prog Urol 1992;2:189-195

6. Bourrouillou G,Dastugue N,Colombies P:Chromosome studies in 952 infertile males with a sperm count below 10 milion /ml.Hum Genet 1985;71:366-367

7. Matsuda T , Horii Y, Ogura K, et al: Chromosomal survey of 1001 subinfertile males:Incidence and clinical features of males withchromosomal anomalies.Hinjokika Kiyo 1992;38:803-809

8. P.H. Vogt, A. Edelmann, S. Kirsch, O. Henegariu, P. Hirschmann, F. Kiesewetter et al., Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to ifer ifferent subregions in Yq11. Hum Mol Genet 5 (1996), pp. 933–943

9. Reijo R, Lee TY, Salo P, et al: Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA- binding proteine gene.Nat Genet 1995;10:383-393

10. Nakahori Y ,Kuroki Y, Komaki R, et al :The chromosome region essential for spermatogenesis.Horm Res 1996;46(Suppl 1):20-23.

11. Seifer I, Amat S, Delgado-Viscogliosi P, et al:Screening for microdeletions on the long arm of chromosome Y in 53 infertilite men. Int J Androl 1999;22:148-154

12. Girardi, A. Mielnik and P.N. Schlegel, Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. Hum Reprod 12 (1997), pp. 1635–1641

13. Prior JL, Kent-First M, Muallem A et al: Microdeletions in the Y chromosome ofinfertile men.N Engl J Med 1997;336:534-539

14. Kleiman SE, Yogev L,Gamzu R, et al:Genetic evaluation of infertile men. Hum Reprod 1999;14:33-38

15. Tiepolo L, Zuffardi O, Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm, Hum Genet. 1976 Oct 28;34(2):119-24. 12. S.K.

16. Kent-First M, Muallem A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Nolten W, Meisner L, Chandley A, Gouchy G, Jorgensen L, Havighurst T, Grosch J., Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. Mol Reprod Dev. 1999 May;53(1):27-41.

17. K. Ma, J.D. Inglis, A. Sharkey, W.A. Bickmore, R.E. Hill, E.J. Prosser et al., A Y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: Candidates for the azoospermic factor AZF controlling human spermatogenesis. Cell 75 (1993), pp. 1287–1295.

18. M.Fujisawa, T.Shirakawa, M.Kanzaki, H.Okjada,S.Arakawa, S.Kamidono.,Y chromosome microdeletion and phenotype in cytogenetically normal men with idiopatic azoospermia. Fertility and Sterility 76,(2001),pp.491-495

19. J.A.M. Kremer, J.H.A.M. Tuerlings, E.J.H. Meuleman, F. Schoute, E. Mariman, D.F.C.M. Smeets et al., Microdeletions of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. Hum Reprod 12 (1997), pp. 687–691.

20. M.G. Kent-First, S. Kol, A. Muallem, R. Ofir, D. Manor, S. Blazer et al., The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. Mol Hum Reprod 2 (1996), pp. 943–950.

21. Quilter CR, Svennevik EC, Serhal P, Ralph D, Bahadur G, Stanhope R, Sutterlin M, Delhanty JD, Taylor KE,Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening of a random group of infertile males, Fertil Steril. 2003 Feb;79(2):301-7.

22. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W:Histology: A Text and Atlas , 4th edn ,Lippincott Williams-Wilkins, Philedilpia, 2003, pp689-696

23. Barret CLR: Spermatogenesis. In Grudzinskas JG, Yovich JL: Gametes The Spermatozoon.Cambridge University Pres, 1995, pp 250-267

24. Cooke HJ, Hargreave T, Eliot DJ: Understanding the genes involved in spermatogenesis: A progress report . Fertil Steril :1998;69:989-995

25. Parks JE, Lee DR, Huang S, Kaproth MT: Prospects for spermatogenesis in vitro .Therigenology 2003;59:73-86

26. Gartner LP, Hiatt JL: Color Textbook of histology. Pennslyvania, W.B. Saunders Company , 1997, pp 406-412

37. Parks JE, Lee DR, Huang S, Kaproth MT: Prospects for spermathogenesis in vitro. Theriogenology 2003 ;59:73-86

38. Aydos K, Kadıoğlu A: Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi, Subfertil Erkeğin Değerlendirilmesi, Haziran 2004,pp:161-163.

39. CLIA web sitesi : www. Hcfa.gow/medical/clia/clia-home.htm

40. Krurger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson JR, Matta JF, Ohenginner S: Predictive volue of abnormal sperm morphology in in vivo fertilization. Fertil Steril 1988; 49;112-117

41. WHO laboratory manuel for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th edition , USA, Cambiridge University pres, 1999.

42. Lee JD, Kamiguchi Y, Yanagimachi R: Analiys of chromosome constitution of human spermatozoa with normal and aberant head morfologies after injection into mouse oocytes. Hum Reprod 1996; 11: 1942-1946

43. Özdiler E, Aydos K; Erkek İnfertilitesi . In Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N (eds): Temel Üroloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 1998, pp:986-993

44. Rucker GB, Mielnik A, King P, Goldstein M, Schlegel PN: Preoperative screening for genetic abnormalites in men with nonobstructive azzospermia before testicular sperm extraction. J Urol 1998, 160:2068

45. Chillon M, Casals T, Mercier B, Lissens W, Silber S, Romey MC, Verlingue C, : Mutation in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens . N Engl J Med 1995 ; 332(22):1470-1480

46. Şamlı M, Dinçel Ç, , Kadıoğlu A: Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi, Erkek İnfertilitesinde Genetik Değerlendirilme, Haziran 2004,pp:193-208

47. Foote S, Vollrath D, Hilton A, Page D, 1992, The Human Y chromosome; Overlaping DNA Clones Spanning the Euchromatic Region, Science , Oct. 258:60-66

48. Lahn BT, and Page D.C, 1997, Functional Coherence of the Human Y chromosome , Science, 278(5338):675-580

49. Leifke E, Niescihlang E: Male infertility treatment inn the light of evidence – based medicine . Andrologia 1996;28:23

50. Huang JW, Lamb DJ, Kim ED, De Lara J, Lin WW:Germ cell non-disjunction in testes biopsies of men with idiopathic infertility. Am J Hum Genet. 1999;64:1638

51. Therman ESM:Human chromosomes: In structure , Behavior and effects: New York , Springer-Werlag:1993

52. Skekkebaek NE, Bryant JI, Philip J: Studies on meiotic chromosomes in infertilite men and controls with normal karyotypes. J Reprod Fertil . 973 ; 35(1)23-36

53. Griffin JE, Wilson JD: Disorders of seksual differantiation . vol 2 pp. 1509-1542

54. Zuhlke C, Thies U, Braulke I, Reis A: Down Sendromu and male infertility: PCR – derived fingerprinting, serological and andrological investigations. Clin Genet 1994;33:342

55. Antonelli A, gandini L, Petrinelli P, Marcucci L, Elli R, Lombardo F: Chromosomal alterations and male infertility . J Endocrinal Invest 2000; 23:677

56. Tarlatzis BC, Grimbizis G, Pregnancy and cild outcome after asisted reproduction tecniques . Human Reprod 1999;suppl .,14:231

57. Page DC, Brown LG, de la Chepella A: Exchange of terminal portions of X- and Y chromosomal short arms in Human XX males . Nature 1987; 328:437

58. Temizkan G, 'Genetik :I.Temel Genetik'İstanbul Üniversitesi basımevi, İstanbul, Türkiye. (1994) 209-211

59. Tiepolo L, Zuffardi O, Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm, Hum Genet. 1976 Oct 28;34(2):119-24. 12. S.K.

60. Goucy G, Jorgensen L,.. Mol Reprod Dev.1999 May;53(1):27-41

61. Masato Fujisava ve all Ferytility and Sterility 76,(2001),pp.491-495

62. Brandel RA, Mielnik A, Liotta D, et al,: AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction. Preliminary report of a prognostic genetic test. Hum Reprod 1998 ;13:2812-2815

63. Girardi SK, Mielnic A, Schlegel PN: Submicroscobik deletions in the Y chromosome of infertil men. Hum Reprod 1997;12:1635-1641

64. Kent-First M, Kol A, Muallem R: The incidenceand possible relevance of Y linked microdeletions in babies born after intracytoplazmic sperm injection ad their infertil farhers . Mol Hum Reprod 1996:2:243

65. Roldan E.R.S, ;Gamendinar , M.: The Y chromosome as a battle ground for sexual selection. Tree., 14(1999) 58-62

66. Voght PH,, Edelmasn A, Kirsch S, ' Human Y chromosome azoospermia Faktör(AZF) Mapped to Different Subregions in Yq11' Hum Mol Genet. 5(1996) 933-943

67. Kent-First M, Kol A, Muallem R, 'Defining Regions of the Y chromosome responsible for male infertility and İdentifikation of a forth AZF region by Y chromosome microdelection detection. 'Mol Reprod. Dev. 53 (1999) 27-41

68. Greenfield A, :'An H-YDb Epitope is encoded by a Novel Mause Y chromosome Gene', Nat. Genet.,14(1996)474-478

69. Chandley A,C;Cooke HJ, 'Human male infertility Y linked Genes and Spermatogenesis' Hum Mol Genet .,3 (1994)1449-1452

70. Hendriks W, Schepens J, Bachner D, RijssJ, Zeeuwen P, Wieringa B'Molecular cloning of a mause epithelial Protein-Tyrosin Phosphatase with similarities to submembranous Proteins J Cell Biecem, 59(1999)418-430

71. Maurer B, Simoni M; Y chromosome mikrodelection screening in infertile men. J Endocrinol Invest 2000;23:664

72. Bick D, Franco B, Sherins RJ, Heye B, Pike L, :Brief report.Intragenic deletion of the KALIG-1gene in Kallman's Syndrome . N Eng J Med 1992;326,1752

73. Layman LC, Cohen DP, Jin M, Li Z, Xie J:Mutations in gonodotroping-realisinr hormone receptör gene cause hypogonadotropic hypogonadism.Nat Genet.1998;18:14

74. Jaffe TMOR;Genetic disorders affecting male infertility. In advances in urology :M.T. Book Chicago Year Book Medical Publishers, vol 9,1996 pp363-405

75. Griffin JE, Wilson JD: Disorders of sexual differantiation. In:Campell's Urology , 6th ed edited by walsh PC, Retik AB, Stamey TA,Philadelpia:W.B. Saunders co.vol, 2, pp, 15091542,1992

76. Eddy EM, Washburn TF, Bunch DO, Lıbahn DB:Targeted disruption of the estrojen receptör gene in male mice causes alterationof spermatogenesis and infertility.Endocrinology 1996,137:4796

77. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B; Melmer G: Identification of the cystic fibrososis gene: chromosome walking and jumping. Science 1989, 245:1059

78. Palermo GD, Colombero LT, Davis OK: Evolution of pregnancies and initial follow-up of newborns delivered after intracytoplasmic sperm injection.JAMA,1996,276:23

79. Van Steireghem A, Nagy P, Joris H, Verheyen G, Smitz J, Camus M, Ubaldi F, Silber S, Devroey P: The development of intracytoplasmic sperm injection. Human Reprod. 1996; Suppl 1:59-72; discussion 81-85

80. Ledbetter DH, Engel E: Uniparenteral disomy in humans: development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis. Human Genet Mol.1995.4 Spec No:1757-1764

81. Van der Ven K, Montag M, Pescha B, Leygraaf J, Schwanitz G, Haidi G, Krebs D. Combined cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening in males undergoing intracytoplasmic sperm injection. Mol Hum Reprod. 1997. Aug;3(8):699-704

82. Foresta C, Ferlin A, Garolla A, Moro E, Pistorella M, Barbaux S, Rossato M. High frequency of well-defined Y chromosomedeletions in idiopathic Sertoli cell only sendrome. Human Reprod.1998 Feb;13(2):302-7

83. Reijo R, Alagappan R, Patrizio P.:'Severe oligozoospermia resulting from deletions of the Azoospermia Factor gene', Lancet.,347(1996)1290-1293

84. Şamlı M.M, Dinçel Ç. 'Erkek İnfertilitesinde Genetik Değerlendirme' Kadıoğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta F, Kendirci M. Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi. İstanbul: Türk Androloji Derneği . 2004:193-208

85. Vollrath D.,Foote S, Hilton A, Brown L, Bogan J.S and Page DC.,1992,The Human Y Chromosome: A43-İnterval Map Based on Naturally Occuring Deletions, Science,258:52-59

86. Krausz C, McElreavey K: Y chromosome and male infertility. Frontiersin Bioscience 4, Jan 1999;e 1-8

87. Frydelund-Larsen L, Krausz C, Leffers H, Anderson AM, Carisen E, Skekkabeak NE. Inhibin B: a marker for the functional state of the seminiferous epithelium in patients with azoospermiafactor C microdeletions. J clin Endocrinol Metab. 2002 Dec;87(12):5618-24

88. Şamlı M.M, Yılmaz E, Şamlı H, İmirzalıoğlu N: İnfertil Erkeklerde Genetik Değerlendirme: Y Kromozom Mikrodelesyonları, Türk Üroloji Dergisi, 2002.28(1):53-59

89. Soydan H, Avcı A, Özgök Y, Orkunoğlu F, Bedir S. 'The Analyses Results of Y Chromosome Mıcrodeletions In Idıopatic Severe Oligozoospermic and Azoospermic İnfertile males. Türk Üroloji Dergisi.;2003.s.181

90. Seifer I, Amat S, Delgado-Viscoglihosi P, Boucher D,1999, Screening for Microdeletions On The Long Arm of Chromnosome Y in 53 İnfertilite men, Int J Andr, 22:148-154

91. Chan P.T.K, Mielnik A, Cook C.A, Liotta D, 2000,The prognostic Value of Y chromosome microdeletions Involving the AZFb Region in Testicular Sperm Extraction,Fertil Steril., Sept vol 74,3,suppl.1:S94

EKLER

Ek 1: Çalışmaya alınan hastalara ait bilgilendirme formu ve izin tutanağı

GÖNÜLLÜLERİ BİLGİLENDİRME FORMU

"İdiopatik infertil hasta ve fertil erkeklerde Y kromozomundaki AZF genindeki mikrodelesyonları'' adlı çalışmanın; amacı, araştırmaya katılacağım süre ve izlenecek işlemler esnasında karşılaşabileceğim rahatsızlıklar, sonuçta elde edebileceğim tıbbi yarar, gerektiği zaman bilgi için bağlantı kuracağım kişi konusunda çalışmayı yürütecek doktorum tarafından sözlü ve yazılı olarak bilgilendirildim.

Bu şartlarda söz konusu çalışmayı kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Tarih :...../...../.....

Adı Soyadı :.....

İmza:

Ek 2. Çalışmaya alınan hastaların bilgi ve takip formu

'İDİOPATİK İNFERTİL VE FERTİL ERKEKLERDE Y KROMOZOMUNDAKİ AZOSPERMİK FAKTÖR GENİNDEKİ MİKRODELESYONLAR' ÇALIŞMASINA AİT HASTA TAKİP FORMU

Hastanın Adı Soyadı :

Yaşı :

Adres :

Telefon :

İnfertilite Tipi(Primer/Sekonder):

Daha Önceki Tedaviler:

Ailede İnfertil Öyküsü:

Spermiogram Sonucu:

Testis Çapları(Uzun Aks):

Sağ; mm , Sol; mm

Serum Hormon düzeyleri:

tT: ng/mL

fT: pg/mL

FSH: mIU/mL

LH: mIU/mL

E2: pg/mL

PRL: ng(mL

Genetik İnceleme Sonucu :

Ek 3: Çalışmaya alınan hastaların tüm parametrelerle karşılaştırılması

*	E_2/ pg/mL	FSH mIU/mL	LH mIU/mL	Pro ng/mL	tT ng/mL	fT pg/mL	Spermiogram grubu	Sağ testis/ mm	Sol testis/ mm	AZF
1	20,1	19.5	11.2	12.1	443	61.9	Azoospermi	31	35	b
2	18,3	26,3	7,8	9,1	538	11,9	Azoospermi	49	46	c
3	31	7,9	7,4	6,2	575	18	Azoospermi	48	46	abc
4	120	17	5.1	7.7	241	10.9	Azoospermi	46	43	abc
5	18.6	33.6	7.7	6.5	471	6.9	Azoospermi	40	36	bc
6	14.3	13	4.1	16.7	698	9.9	Azoospermi	29	22	b
7	18,3	16,6	9,1	13,1	635	599	Azoospermi	34	39	-
8	20,2	1,4	0,4	18,9	20	0,4	Azoospermi	50	53	-
9	20	7.08	2.3	12.1	311	12	Azoospermi	51	50	-
10	20	11.7	3.5	4.8	618	21.3	Azoospermi	53	42	-
11	<20	7.9	7.7	12.2	362	61.9	Azoospermi	24	28	-
12	<20	9.3	2.6	13.0	453	9.8	Azoospermi	40	44	-
13	<20	18.6	9.4	8.4	640	37.3	Azoospermi	34	30	-
14	<20	44.6	22.4	6.5	549	13.2	Azoospermi	40	32	-
15	20	4.9	2.3	8.71	660	28.5	Azoospermi	23	25	-
16	60	5.5	5.3	6.21	277	3.2	Azoospermi	39	34	-
17	20	27.8	7.3	4.3	493	11.1	Azoospermi	36	39	-
18	20	6.0	3.1	24.3	509	11.9	Azoospermi	55	51	-
19	20	12.5	5.2	4.1	450	10.7	Azoospermi	45	40	-
20	20	1.4	0.43	18.9	120	0.4	Azoospermi	48	44	-
21	20	4.2	6.0	6.12	356	24.6	Azoospermi	55	53	-
22	20	21.7	5.7	14.6	526	17	Azoospermi	48	41	-
23	20.4	8.7	8.6	5.5.	564	5.3	Azoospermi	52	50	-
24	120	12.7	5.1	3.8	241	10.9	Azoospermi	50	55	-
25	20	3,7	1.3	9.3	228	9.9	Azoospermi	56	54	-
26	20	4.3	2.0	4.0	459	12.4	Azoospermi	46	40	-
27	31	7.9	9.4	6.7	575	18	Azoospermi	49	44	-
28	29	4.6	3.8	18.1	566	37.7	Azoospermi	44	41	-
29	26	21.2	13.8	5.8	267	6.7	Azoospermi	50	50	-
30	20	4.9	6.38	7.3	394	18.7	Azoospermi	51	53	-

31	20	5.6	3.7	3.8	197	8.8	Ağır oligospermi	60	61	-
32	20	11.3	3.4	3.3	337	10.3	Ağır oligospermi	59	54	-
33	20	6.3	3.9	2.8	287	6.4	Ağır oligospermi	59	61	-
34	20	19,3	3,3	4,7	473	5,6	Ağır oligospermi	50	51	c
35	20	2,3	1,23	5,3	602	17,6	Ağır oligospermi	45	43	-
36	220	16	5,9	7,4	1132	15,3	Ağır oligospermi	49	46	-
37	20	5,5	5	6,1	459	7,5	Ağır oligospermi	45	51	-
38	22	5,5	5,1	7,2	258	11	Ağır oligospermi	30	28	-
39	18	4.9	9.9	4.9	349	21	Ağır olgospermi	50	52	-
40	20	9.9	8.1	7.2	454	22	Ağır oligospermi	60	61	-
41	20	5.1	4.8	7.2	98	15	Hafif oligospermi	51	54	-
42	20	3,6	1,1	4,8	247	9,8	Hafif oligospermi	51	55	-
43	20	7,4	7,1	5,1	407	10,8	Hafif oligospermi	60	65	-
44	20	4,9	5,8	4,5	480	10	Hafif oligospermi	58	50	-
45	20	1,9	4,9	4,4	505	18	Hafif oligospermi	45	46	-
46	20	16,7	6,4	5,9	601	15	Hafif oligospermi	48	47	-
47	20	10,4	2,5	14	408	14,3	Hafif oligospermi	42	46	
48	20	9,6	3,8	12,1	554	19,6	Hafif oligospermi	49	48	-
49	20	3,2	5,5	12	259	9,6	Hafif oligospermi	45	50	-
50	20	9,1	4,6	10	410	24,3	Hafif oligospermi	61	50	-
51	20	6,8	6,5	11	395	16,3	Normospermi	55	61	-
52	20	8,3	5,2	10,3	441	20,6	Normospermi	51	55	-
53	25	11,1	5,6	9	257	12	Normospermi	57	63	-
54	20	8,1	4,3	10	366	20	Normospermi	51	52	-
55	20	7,1	3,3	9,9	261	11,3	Normospermi	54	56	-
56	20	6,9	4,4	5,9	255	14,3	Normospermi	55	55	-
57	20	6,2	4,3	3,6	323	21,1	Normospermi	53	52	-
58	20	7,2	5,3	6,2	298	14,3	Normospermi	50	53	-
59	20	11,1	7,6	10	595	33,7	Normospermi	50	44	-
60	20	8,7	5,5	9,3	397	21	Normospermi	44	50	-

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

İDİOPATİK İNFERTİL VE FERTİL ERKEKLERDE Y KROMOZOMUNDAKİ AZOSPERMİK FAKTÖR GENİNDEKİ MİKRODELESYONLAR

Dr. Ahmet Ali SANCAKTUTAR

Dekanlık makamının 17.02.2006 tarih ve 468 sayılı yazıları ile gönderilen, Üroloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerinden Dr. Ahmet Ali SANCAKTUTAR' a ait "İdiopatik İnfertil Ve Fertil Erkeklerde Y Kromozomundaki Azospermik Faktör Genindeki Mikrodelesyonlar'' isimli tez tarafımızdan incelendi.

Amaç, genel bilgiler, materyal ve metod, bulgular ve tartışma ve sonuç bakımından yeterli nitelikte olup, doyurucu ve güncel literatür kullanımı ile bu tezin uzmanlık tezi için yeterli olabileceği kanaatine varıldı.

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 30.11.2000

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 06.03.2006

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 03.03.2006

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Özkan POLAT

Jüri üyesi : Prof. Dr. Güray OKYAR

Jüri üyesi : Prof. Dr. S. Selçuk ATAMANALP

Jüri üyesi : Prof. Dr. Özkan POLAT

Jüri üyesi : Doç. Dr. İsa ÖZBEY

Jüri üyesi : Doç. Dr. Yılmaz AKSOY

Prof. Dr. Güray OKYAR
Üroloji Anabilim Dalı Başkanı

Mart-2006
ERZURUM