

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AZOOSPERMİK VE OLİGOZOOSPERMİK HASTALARDA
GENETİK ANOMALİ VARLIĞININ ICSI (İNTRASTOPLAZMİK
SPERM İNJEKSİYONU) SONRASI FERTİLİZASYON SONUÇLARINA
ETKİSİ**

Dr.Özgür ALDEMİR

**Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

ESKİŞEHİR

2010

PDF Eraser Free

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AZOOSPERMİK VE OLİGOZOOSPERMİK HASTALARDA
GENETİK ANOMALİ VARLIĞININ ICSI (İNTRASTOPLAZMİK
SPERM İNJEKSİYONU) SONRASI FERTİLİZASYON SONUÇLARINA
ETKİSİ**

Dr.Özgür ALDEMİR

**Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. M.Hamza MÜSLÜMANOĞLU**

ESKİŞEHİR

2010

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr.Özgür ALDEMİR'e ait "Azoospermik ve Şiddetli Oligozoospermik Hastalarda Genetik Anomali Varlığının ICSI(İntrastoplazmik Sperm İnjesiyonu) Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Etkisi" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 26.11.2010

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Sevilhan ARTAN

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye

Doç.Dr. M. Hamza MÜSLÜMANOĞLU

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye

Doç.Dr. Cavit CAN

Üroloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun 02.12.2010 Tarih ve 44/02 Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Zübeyir KILIÇ

Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof.Dr. Sevilhan ARTAN'a, Doç.Dr. M.Hamza MÜSLÜMANOĞLU'na, Yrd. Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR'e, Yrd.Doç.Dr. Beyhan DURAK ARAS'a, Yrd.Doç.Dr. Oğuz ÇİLİNGİR'e teşekkür ederim ve ayrıca tezimde bana yardımcı olan Üroloji Anabilim Dalından Doç.Dr. Cavit CAN'a ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalından Prof.Dr. Hikmet HASSA'ya teşekkür ederim.

ÖZET

Aldemir, Ö. Azoospermik ve şiddetli oligozoospermik hastalarda genetik anomali varlığının ICSI(İntrastoplazmik Sperm İnjesiyonu) sonrası fertilizasyon sonuçlarına etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir,2010. Tezimizde azoospermik ve oligozoospermik erkek hastalarda hem kromozom anomalilerinin hem de Y kromozom mikrolelesyonlarının sıklığını ve tiplerini belirlemek; saptanan genetik anomaliler ile infertil erkeklerdeki klinik veriler arasındaki ilişkiyi incelemektir. Genetik anomali saptanan azoospermik ve oligozoospermik erkeklerde, genetik anomali varlığının intrastoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) sonrası fertilizasyon üzerine etkisini araştırmaktır. Çalışmamız 97 infertil ve 10 kontrol fertil erkek üzerinde yürütüldü. Y kromozom mikrolelesyonu saptanan bazı hastaların babalarında da aynı durumun varlığı araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 97 infertil erkek arasında azoospermik olan 73 olgunun 2'inde (~%3) hastada Y kromozom mikrolelesyonu saptanmıştır. Azoospermik olan 73 hastadan 13'ünde ve oligozoospermik 24 hastanın ise 3'ünde toplam 16 infertil hastada kromozom anomalisi saptanmıştır. Y kromozom mikrolelesyonu ve kromozom anomalisi sıklığı açısından araştırıldığında infertil erkek popülasyonda toplam genetik anomali sıklığı olarak belirlenmiştir. Genetik anomalisi olan vakaların ICSI sonrası gebelik sonuçları ile genetik anomalisi olmayan vakaların ICSI sonrası gebelik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fertil olduğu bilinen ve kontrol grubunu oluşturan 10 kişide ise ne Y kromozomu mikrolelesyonu ne de kromozom anomalisi saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler : Erkek infertilitesi, azoospermi, oligozoospermi, intrastoplazmik sperm injeksiyonu, TESE, kromozom anomalisi, Y kromozom mikrolelesyonu

ABSTRACT

Aldemir, Ö. Impact of the presence of genetic abnormalities on outcome of fertilization after ICSI(Intracytoplasmic sperm injection) in azoospermic and severe oligozoospermic patients. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Medical Genetics, Eskişehir, 2010. In our thesis, is to determine both the frequency and types of chromosome abnormalities and Y chromosome microdeletion in male patients with azoospermic and oligozoospermic and to detect the relationship between clinical data of infertile males determined genetic abnormalities. Genetic abnormalities detected in men with azoospermic and oligozoospermic, is to investigate impact of the presence of genetic abnormalities on outcome of fertilization through after ICSI. In our thesis is performed 97 infertile patients and 10 control fertile male. The same situation was also investigated in fathers of patients with Y chromosome microdeletions. The study of 97 infertile male, 73 were azoospermic and 24 were oligozoospermic. Totally 2 patients detected Y chromosome microdeletions; 2 out of 73 azoospermic patients had Y chromosome microdeletions. Totally 16 patients detected chromosome abnormalities; 13 out of 73 in patients with azoospermic and 3 out of 24 in patients with oligozoospermic detected chromosomal abnormalities. We investigate the incidence of Y chromosome microdeletion and chromosomal abnormalities and the incidence of genetic abnormalities in the infertile male population. Among patients who had pregnancy after ICSI, there was no correlation found between patients those has genetic abnormality and the patients those hasn't. We detected neither Y chromosome deletion nor chromosomal abnormalities in the fertile control group of 10 person.

Key Words : Male infertile, azoospermic, oligozoospermic, intracytoplasmic sperm injection, TESE, chromosomal abnormality, Y chromosome microdeletion.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. İnfertilite Tanımı ve Prevalansı	4
2.2. Erkek İnfertilitesi	5
2.2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi	5
2.2.2. Embriyolojisi ve Seksüel Farklılaşma	5
2.2.3. Erkek Üreme Sisteminin Fizyolojisi	6
2.2.4. Erkek İnfertilite Sebepleri	8
2.2.5. Erkek İnfertilitesinin Tanısı	9
2.2.6. Erkek İnfertilitesinde Genetik Faktörlerin Rolü	13
2.2.7. Erkek İnfertilitesinin Tedavisi	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22

PDF Eraser Free

	Sayfa
3.1. Hasta Grubu	23
3.2. Gereçler	23
3.3. Yöntem	24
3.4. İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	31
5.1. İnfertil Erkeklerde Genetik Anomalilerin Sıklığı	31
5.2. İnfertil Erkeklerde Y Kromozom Delesyon Sıklığı	33
5.3. Testiküler Histopatoloji ve FSH Düzeyi İle Y Kromozom Delesyonlu İnfertil Erkekler Arasındaki İlişki	37
5.4. Genetik Anomalilerinin ICSI Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Etkisi	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	42
EKLER	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

AZF	Azoospermi Faktör
DAZ	Deleted in azoospermia
DFFRY	Drosophila Fat Facets Related Y gene
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
FSH	Folikül Stimüle Edici Faktör
GTL	Giemsa Tripsin Leishman
ICSI	Intrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu
IVF	In Vitro Fertilizasyon
LH	Lüteinize Edici Faktör
MSY	Male Spesific Y
NOA	Non Obstruktif Azoospermi
PCR	Polimerize Zincir Reaksiyonu
RBMY	RNA Binding Motif of Y chromosome
SCOS	Sertoli Cell Only Sendrom
SRY	Sex Determining Region on the Y
STS	Sequantial Tag Sites
TESE	Testiküler Sperm Ekstraksiyonu
YRRM	Y-linked RNA Recognition Motif

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. İnsan spermatozoalarının bazı anormal şekillerinin şematik çizimi	12
2.2. Y kromozomunun şematik yapısını gösteren diagram	19
2.3. Erkek infertilitesinin tanısında ve tedavisinde izlenmesi gereken aşamalar	21
4.1. Normal karyotipe sahip infertil bir olgu	29
4.2. Seks kromozom anomalisi olan infertil olgunun karyotipi, 46,XY,t(Y;12)(q10;q10)	30
4.3. Azoospermik iki hastanın Y kromozom mikrolelesyon varlığının jel görüntüsü	30

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Dünya Sağlık Örgütü Semen Analizi Referans Değerleri	10
2.2 Erkeklerde endokrin değerlendirme	13
2.3. Y kromozom üzerindeki genler	15
2.4. AZF aday genleri	17
2.5. Gen isimleri ile eksprese olduğu dokular ve Y üzerindeki kopya sayısı	18
3.1. Farklı STS lokusuna ait PCR ürünleri ve internal kontrol	25
4.1. Azoospermik ve oligozoospermik hasta grubunda kromozomal anomali, Y mikrodelesyonu ve genetik anomali olup olmadığının istatistiksel karşılaştırılması	27
4.2. Kromozomal anomali ve Y mikrodelesyonu olan yada olmayan hastalarda FSH düzeyinin karşılaştırılması	28
4.3. Azoospermik ve OAT'li olguların testis biopsi sonuçlarının karşılaştırılması	28
4.4. Y kromozom delesyonu olan ve olmayanlarla biopsi sonuçlarının karşılaştırılması	28
4.5. Azoospermik ve oligozoospermik vakalarda tedavi sonuçları	29
5.1. Literatürde yer alan erkek infertil vakaların seks-otozom kromozom anomali sonuçları	32
5.2. Literatürde yer alan erkek infertil vakalarda Y delesyon sonuçları	36
5.3. Testikuler histopatoloji ve Y mikrodelesyon arasındaki ilişkisi	39

1. GİRİŞ

İnfertilite, günümüzde ciddi bir sağlık sorunu olup, son 10 yılda ülkemizde ve dünyada infertilitenin tanısı ve tedavisindeki gelişmeler baş döndürücü hızla ilerlemektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre, eşlerin bir yıldan fazla sürede düzenli ilişkiye girmesine rağmen gebeliğin oluşmamasına infertilite denir. Bazı otörler tarafından infertilite, genel olarak en az 12 aylık korunmasız ilişkiden sonra gebeliğin sağlanamaması olarak tanımlanır. Normal sağlıklı genç çiftlerde aylık % 20-25 oranında gebelik gelişebilir. Birçok çalışma infertilite prevalansını klinik tabanlı veya populasyon tabanlı olarak ayırmış ve bu çalışmaların birçoğunda infertilite prevalansının tüm çiftlerde yaklaşık %14 oranında olduğu yayınlanmıştır(1). İnfertilite genetiği alanında son 10-15 yılda yapılan çalışmalar tanıya ve tedaviye yardımcı olmuş, infertilitenin etyolojisini aydınlatmaya yönelik önemli bilgilere ulaşmamızı sağlamıştır. Erkek faktöre bağlı infertil vakalarda, özellikle non-obstruktif azospermik erkeklerde azospermiye yol açan Y kromozomu üzerinde tanımlanmış AZF lokuslarına (AZFa, AZFb, AZFc) ait delesyonun büyüklüğüne ve yerine göre farklı fenotip görülmektedir. Y kromozomu delesyonları ilk kez Tiepolo ve Zuffardi tarafından infertil erkeklerin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Vogt ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada AZFa, AZFb, AZFc bölgelerinin delesyonu sırasıyla sertoli cell only, hipospermatogenezis/spermatogenik arrest ve şiddetli oligozoospermiden normozoospermiye kadar çeşitli fenotiplerle ilişkili olduğu gösterilmiştir(4,18). Genetik anomaliler, sperm yapımını ve taşınmasını etkileyerek infertiliteye yol açabilir. Erkek infertilitesi ile ilişkili sık görülen üç genetik faktör şunlardır(5):

1. Vaz deferenslerin konjenital yokluğu ile bağlantılı kistik fibrozis gen mutasyonları
2. Testiküler fonksiyonda bozulmaya yol açan kromozom anomalileri
3. İzole spermatogenik bozulma ile bağlantılı Y kromozomu mikrodelesyonları

Azoospermi ve şiddetli oligozoospermi nedeni genetik anomalilerle bağlantılı olabilir. Azoospermik hasta grubunda kromozom anomalisi görülme oranı

PDF Eraser Free

oligozoospermik hasta grubuna göre daha fazla olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir(5).

İnfertil erkeklerde görülen kromozomal anomalilerin 2/3'sini seks kromozom anöploidileri oluşturur (47,XXY, 46,XY...). Klinefelter sendromu, genel popülasyonda %0.1, infertil erkek popülasyonunda ise %3.1 görülürken azoospermiklerin %14'ünden, oligozoospermiklerin ise %0.7'sinden sorumludur. Klinefelter Sendromundan sonra erkek infertilitesinin en önemli ikinci genetik sebebi Y kromozom delesyonlarıdır(1). Genel popülasyona göre inversiyon, translokasyon gibi kromozom yapısal anomalileri infertil erkeklerde daha siktir. Erkeklerde büyük bir karyotipik anomali varsa çiftin düşük riski ve konjenital anomalili çocuk doğurma şansı artacaktır. Azoospermik veya şiddetli oligozoospermik erkeklere ICSI uygulaması öncesi karyotip ve Y kromozom delesyon incelemesi yapılmalıdır(5).

Y kromozom delesyonlarının saptanması hem tanı, hem de infertil çiftlere genetik danışmanlık verilmesi açısından önemlidir. Ciddi hasarlı spermatogenezisli hastalarda TESE (Testiküler sperm ekstraksiyonu) yapılmadan önce Y mikrodelesyonlarının taranması gereklidir. Çünkü AZFa veya AZFb bölgesinde komplet delesyon veya AZFa+b+c ve AZFb+c bölge delesyonuna sahip vakalarda TESE uygulaması tavsiye edilmemektedir. Komplet AZFc, parsiyel AZFa veya parsiyel AZFb delesyonunun varlığı durumunda başarılı TESE prosedürü (testisten matür sperm elde edilmesi) uygulanabilmektedir. Bu nedenle Y kromozom delesyonunun yerinin ve delesyon büyüklüğünün saptanması büyük önem taşımaktadır (komplet ya da parsiyel). Y kromozom delesyonlarının rutin olarak taranması intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) tedavisi öncesinde önemlidir(5).

Çalışmamızda 97 erkek infertilitesi bulunan hastalarda ve fertil olduğu bilinen kontrol grubunda hem kromozom anomalilerinin hem de Y kromozom delesyonlarının sıklığı ve tipleri belirlenmiştir; saptanan genetik anomaliler ile infertil erkeklerde klinik parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. Kromozom anomalilerinin ve Y mikrodelesyonlarının intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) yoluyla fertilizasyonu olumsuz etkileyip etkilemediği araştırılmıştır. Ayrıca Y kromozom mikrodelesyonu bulunan erkeklerden sadece birinin babasında Y kromozom delesyon varlığı araştırılıp bu delesyonun de novo olup olmadığı saptanmıştır.

PDF Eraser Free

Genetik anomalilerin ve genetik faktörlerin ICSI sonrası gebelik sonuçlarının etkisini araştıran fazla çalışma yoktur. Çalışmamızda Türk popülasyonunda bu konuda yapılan ilk çalışma özelliğindedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite Tanımı ve Prevalansı

Normal fertilizasyon sonrası gebeliğin oluşması için ve gebeliğin sürdürülebilmesi için, hem erkeğe hem de kadına ait birçok anatomik, fizyolojik, hormonal, genetik, immunolojik ve çevresel faktörün bütünlük içerisinde olması gerekir. Ayrıca kadın üreme sisteminin anatomik bütünlüğünde, hipotalamo-pituitar-ovaryen aksında fonksiyonel olarak sağlam olması, düzenli ovulasyon, normal follikulogenezis, ovulasyon ve etkili luteal faz gerekir. Erkeklerde sağlam bir üreme organ anatomisi, normal spermatogenezisin hipotalamo-pituitar-testiküler aksın normal kontrolü altında olması gerekir. Yeterli sayıda morfolojik olarak normal motil spermatozoa, sağlıklı seksüel fonksiyonla vaginanın içerisine girerek fallopian tüplerde ovumla karşılaşır. Fertilizasyonun gerçekleşebilmesi için spermatozoa periovulatuvar servikal mukosa penetre olmalıdır ve fallopian tüplerde yeterli miktarda mobil ve fonksiyonel ovum taşınmalıdır. Başarılı bir fertilizasyonun oluşmasından sonra, embriyonun başarılı implantasyonu için fonksiyonel bir korpus luteum olması ve hormonal olarak normal endometrium olması gerekir. Bu olaylar zincirinde herhangi bir anomali varlığında infertilite problemi ortaya çıkmaktadır(1,5). Erkek faktörü infertil vakaların yaklaşık % 40'ında ve dünya üzerindeki infertil çiftlerin yaklaşık % 2-7'si tek tanısal kategoridir. Yaklaşık % 40'dan % 50'ye kadar vakaların ovulatuvar disfonksiyonun, uterin veya tubal hastalık, servikal problemler, immunolojik faktörler ve infeksiyon hastalıkları kadın faktörünün sebeplerindedir. Açıklanamayan infertilite vakaların % 10-20 oranında olduğu bilinmektedir. Birçok infertilite prevalans çalışmaları, klinik temelli veya populasyon temelli çalışmalardır. Birçok prevalans çalışmasında tüm çiftlerin %14'ünün infertil olduğu kabul görmüştür(1).

2.2. Erkek İnfertilitesi

2.2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi

Erkek üreme sistemi iki testis, intratestikuler sistem (tubuli rekti ve rete testis) ve ekstratestikuler sistem (epididimis, vas deferens, ejakülatuar kanal), seminal vesikül, prostat, iki bulbouretral bezi ve penisi içerir. Testisin 2 farklı ve önemli fonksiyonu vardır, bunlar seminifer tübülleri içindeki spermatozoa bulundurması, Leydig hücrelerindeki testosteron sentezi, saklanması ve salgılanmasıdır. Sertoli hücrelerinin seminifer tübülleri döşeyen hücreler olarak birçok fonksiyonu vardır; fiziksel ve besleyici germ hücrelerin gelişimini destekler ve androjen bağlayıcı protein, anti-müllerian hormon ve inhibin salgılar. Spermatogenetik hücreler çeşitli maturasyon aşamalarında seminifer tübüllerde yerleşir. Bu spermatogenetik hücrelerin maturasyon sürecine spermatogenezis denir. Bu süreç yaklaşık 70 gün süresince tamamlanır(6). Spermatogenezis birçok hücresel değişiklikleri içeren karmaşık ve uzun bir süreçtir. Spermatogenezis sürecinin gelişimi iyi tanımlanmış olmasına rağmen spermatogenezisin genetik kontrolü hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır. Farklı kromozomal hastalıklarda, hem yapısal (seks-otozom kromozom translokasyonları) hem de sayısal (Klinefelter sendromu gibi) anomaliler spermatogenetik bozulmaya neden olan faktörlerdendir(5).

2.2.2. Embriyoloji ve Seksüel Farklılaşma

Seksüel farklılaşma özgül birtakım olaylar dizisi sonucu tamamlanır: İlk olarak genetik cinsiyet belirlenir. İkinci olarak genetik cinsiyetin kontrolü altında gonadların farklılaşması, embriyonun hormonal çevreyle tanışması, mezonefrik (eski adıyla Wolffian) veya paramezonefrik (eski adıyla Müllerian) genital kanalların farklılaşmasına bağlı iç ve dış genital yapıların oluşmasını kapsar. Y kromozom varlığında medüller doku, seminifer tübüllerinden ve plasentadan salgılanan human koryonik gonadotropini, androjen salgılama özelliğine sahip Leydig hücrelerinden oluşan testisi meydana getirir. Y kromozomu yoksa, gebeliğin 12. haftasından başlayarak, gonad, over dokusunu oluşturur; korteks gelişip medulla geriler ve oogonyalar follikül içinde gelişimi başlar. Yaklaşık 3. ayın sonundan itibaren oogonyalar mayoz I'de bölünmeye başlar, fakat bu süreç ovulasyonun olacağı zamana kadar, diptiyoten evresinde duraklar (4,5).

PDF Eraser Free

Kromozomal ve genetik cinsiyetin tanımlanması fertilizasyonda X taşıyan sperm veya Y taşıyan sperm ile X taşıyan ovumun fertilize olmasıyla oluşur. Seks kromozom yapısı gonadın tipini ve gelişimini belirler. 7 haftadan önce, her iki cinsiyetteki gonad farklılaşmamış gonad olarak adlandırılır. Farklılaşmamış gonadlar bipotansiyeldir, kortikal ve medüller alanlara sahiptir ve hem testise hem de overe farklılaşabilme yeteneği vardır. Erkek cinsiyet ve testis gelişimi için fonksiyonel bir Y kromozomu gerekir, seks farklılaşmasındaki kritik bölge bu kromozomun kısa kolunda yer almaktadır. SRY (Sex determination region of Y chromosome) geni, psödootozomal bölgeye yakın Y kromozomunun distal kısa kolunda yer alır ve bu bölgede DNA bağlayan bir protein kodlar, regüle ettiği genler bilinmemekle birlikte bir transkripsiyon faktörü olduğu düşünülmektedir. Y kromozomunda SRY'nin varlığı cinsiyet farklılaşmasında gereklidir. Mayoz I'de Xp/Yp psödootozomal bölgeleri içeren bir rekombinasyon gerçekleşirken nadir olarak psödootozomal bölge dışında SRY içeren rekombinasyon oluşur. SRY'nin yokluğu (delesyonu) gonadal disgenezise(46,XY dişi) veya SRY'nin X kromozomunda yer alması 46,XX erkek oluşumuna neden olur. Her iki 'seks reversal' olarak isimlendirilen durumunda yaklaşık 20.000 doğumda birdir. SRY geni, testis farklılaşmasından önceki safhada, germinal katlantıdaki hücrelerin erken gelişim basamağında eksprese edilir. SRY, Y kromozomu üzerindeki TDF geninin eşdeğeridir. SRY varlığı veya yokluğu anormal cinsiyet farklılaşması olan vakaların tümünü açıklamaya yetmez. XX erkek gerçek hermafrodit birçok vakada veya kuşkulu genitalyaya sahip XX erkeklerde SRY'nin varlığı gösterilememiştir. Bu da SRY dışında diğer genlerin cinsiyet gelişiminin yolağında etkili olduğunu düşündürmektedir(5).

2.2.3. Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi

Testisin en önemli fonksiyonu spermatozoa ve testosteron üretimidir. Bu fonksiyon erkeklerde pubertede başlar ve hipotalamopituiter gonadal aks üzerinden testis gonadotropin uyarısı altındadır. Gonadotropin salgılayan hormon(GnRH) hipotalamus aracılığıyla uyarılan LH, ön pituiter bezden salgılanır. Leydig hücrelerinde LH reseptörüne bağlanır ve cAMP'yi aktive eder. Bu da kolesterolden sentezlenen testosteronun sentezini uyarır. Testosteron, erkek üreme hücrelerinde spermatogenezisin başlaması ve oluşması için yeterli değildir, fakat gereklidir. FSH

PDF Eraser Free

(Folikül stimule edici hormon) ön hipofiz bezinden salınır, sertoli hücrelerinden androjen bağlayıcı protein ve inhibin sentezlenmesini uyarır ve spermatozoaların oluşumunu düzenler. FSH, bu süreçte önemli bir rol oynar. Östrojen ve testosteron, sertoli hücrelerinden sentezlenen androjen bağlayıcı protein tarafından bağlanır, seminifer tübül lümeni içine taşınır ve spermin maturasyonu tamamlanmasını sağlar. Sperm maturasyonunu tamamladıktan sonra hareket yeteneğini epididimiste kazanır. Ayrıca FSH, seminifer tübüldeki spermatozoa miktarını yansıtır, fakat spermatozoa üretimiyle bir ilişkisi yoktur. Androjen bağlayıcı protein, testosterona bağlanır ve spermatogenezisi sürdürür. Ayrıca testosteron seminal vezikülün, prostatın ve bulbouretral bezlerin normal fonksiyonu için ve erkeklerde sekonder seks karakterlerinin gelişimi için gereklidir. Normal bir sperm aktivitesi ejakulat içindeki nötral veya alkali ortamda artar. Semen sıvı içeriğinin yaklaşık % 60'ını seminal vesikülden salgılanan fruktozdan zengin sıvı oluşturur, geri kalan % 30'u prostat bezinden ve % 10'u vas deferensten sağlanır. Sperm hücreleri erkek üreme kanalında haftalarca canlı halde kalmasına rağmen vücut ısısında semen içinde maksimum yaşam süresi 24 ile 48 saat arasındadır. Daha düşük ısılarda ise semen içindeki sperm hücresi haftalarca saklanabilir. Sperm hücresi -100°C sıcaklıkta dondurulduğunda yıllarca saklanabilir. Sperm hücresine epididimisten ayrıldıktan sonra olgunlaşmasına rağmen, üreme kanalındaki birçok inhibitör faktör sperm hücrelerinin aktivitesini kontrol altında tutar(6). Spermin dışı üreme kanalında ovuma ulaşım fertilize olabilmesi için birçok aşamadan geçmesi gerekir. Uterin ve fallop tüplerin sıvıların inhibitör etkileri ile sperm aktivitesini baskılar. Ayrıca seminal vesikülden salgılanan kolesterol sperm akrozomunu, hücre membranını çevreleyerek korur. Sperm başının membranındaki kalsiyum iyonları geçirgen hale getirir, kalsiyum spermin içine girer ve flagellum aktivitesinde değişikliklere neden olur. Buna ek olarak kalsiyum iyonları akrozomun iç membranında değişikliklere neden olarak akrozomdan enzimlerin hızla salınmasını sağlar, sperm kolayca granuloza hücrelerine geçer ve ovumun zona pellusidasına ulaşır. Tüm bu değişiklikler kapasitasyon süresince gerçekleşir(6).

2.2.4. Erkek İnfertilite Sebepleri

Aşağıda verilen seri çok geniş bir hasta popülasyonunun dağılımını vermektedir. Burada dikkat edilecek nokta yapılan tüm değerlendirmelere rağmen yaklaşık 1/3 hastada tanı konulamamaktadır. Bundan sonraki ikinci geniş grup ise varikozel grubudur(7).

1. Nedeni açıklanamayan grup	% 31.1
2. Varikozel	% 15.6
3. Endokrin hipogonadizm	% 9.0
4. Subklinik enfeksiyonlar	% 8.0
5. İnmemiş testis	% 7.8
6. Erektile disfonksiyon, hipospadias	% 6.0
7. İmmünolojik	% 4.5
8. Genel ve sistemik hastalıklar	% 3.1
9. Obstrüktif patolojiler	% 1.7
10. Jinekomasti	% 1.1
11. Testis tümörleri	% 0.3
12. Malign hastalıklarda semen dondurulması	% 6.5
13. Diğer çeşitli nedenler	% 5.5

Nedeni açıklanamayan grup içinde genetik faktörlere bağlı erkek infertilitesi önemli bir yer almaktadır, gün geçtikçe yapılan yeni çalışmalar genetik faktörlerin önemini ortaya koymuştur. Genetik faktörlerin başında seks ve otozomal kromozom anomalileri, Y kromozom mikrodelsiyonları, mitokondriyal gen mutasyonları ve tek gen hastalıkları gelmektedir. Seks kromozom anomalilerinin başında Klinefelter sendromu gelmektedir. Y kromozom delesiyonları, erkek infertilitesinin etyolojisinde tanı ve genetik danışma açısından son derece önemlidir(7). Tek gen hastalıkları olarak bilinen grup içinde kistik fibrozis de dahil olmak üzere 50'ye yakın hastalık erkek infertilitesiyle ilişkilendirilmiştir. Bunlar içinde bilinen iki gen; androjen gen mutasyonları ve kistik fibrozis transmembran konduktans regülatör (CFTR) gen mutasyonları konjenital vas deferans yokluğuyla ilişkilendirilmiştir. Mitokondriyal gen mutasyonları, mitokondrinin kendi nuklear genomundaki genlere ait mutasyonlar

PDF Eraser Free

enerji üretimini azaltarak spermin motilitesini azaldığı ve infertiliteye yol açtığı düşünülmektedir(18).

Genetik olmayan sebepler ise hipogonadotropik hipogonadizm, testiküler hasar (travma, enfeksiyon...), yapısal erkek üreme sistemi hastalıkları (obstruktif spermatik kanal, sperm aglütinasyonu), erektil disfonksiyon, geçirilmiş inguinal veya skrotal cerrahi öyküsü, varikosel ve kimyasallara maruziyet sayılabilir. Hormonal etkenlerin üreme fonksiyonları üzerine çok ciddi sonuçları vardır. Örneğin primer testiküler yetmezlikte FSH ve LH hormonları yüksek seyreder, fakat gonadlar da bu uyarıya cevap veremediği için testosteron düzeyi düşük olacaktır. Hipogonadotropik hipogonadizm gonadotropin düzeyleri düşük çıkan hastalarda düşünülür. Eretil disfonksiyon tüm erkeklerin %10-15'ini etkilemektedir. Bu sorunun % 80 'inin nedeni kan basıncı problemleri, ilaçlar, periferik sinir hastalıkları ve hormonal problemlerdir. Varikosel, genç ve orta yaşta erkeklerde infertiliteye neden olan, spermatik kordun içindeki pampiniform pleksusun variköz genişlemesi ile oluşan bir hastalıktır(18).

2.2.5. Erkek İnfertilitesinin Tanısı

- Anamnez
- Fizik muayene
- Laboratuvar değerlendirmesi

Semen analizi, erkek infertilitesine klinik yaklaşımı doğru olarak ortaya koyabilmek için son derece önemlidir. Semen değerlendirilme kriterleri, Dünya Sağlık Örgütü tarafından geliştirilip 2010 yılında kriterler değişiklik aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 2.1. Dünya Sağlık Örgütü Semen Analizi Referans Değerleri (3,7).

Parametre	DSÖ 1999	DSÖ 2010
Semen hacmi(ml)	≥2 ml	1.5 ml
Toplam sperm (ejakulat/106)	40 milyon	39 (33-46) milyon
Sperm sayısı/ml	20 milyon	15 (12-16) milyon
Total motilite (%)	>50	40 (38-42)
Hızlı ileri hareketli,%	25	32 (31-34)
Vitalite(canlı sperm,%)	75	58 (55-63)
Sperm morfoloji(normal form, %)	-	4 (3.0-4.0)
pH	≥7.2	≥7.2
Peroksizom-pozitif lökosit	<1.0	<1.0

Son yirmi yılda sperm konsantrasyonu ve motilitesi değerlendirme yöntemlerinde fazla bir ilerleme olmamasına karşın sperm morfolojisi değerlendirme yöntemlerinde önemli gelişmeler olmuştur. Sperm morfolojisi için geçerli Dünya Sağlık Örgütü kriterleri Kruger'in (Tygerberg) strict kriterlerine yakındır. Sperm morfolojisi strict kriterleri, standart IVF şansları düşük ancak ICSI ile fertilizasyon şansları daha yüksek olan çiftlerin saptanması amacıyla kullanılır. Dünya Sağlık Örgütünün 2010'da belirlediği kriterleri rutin semen değerlendirilmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Bu kriterlere göre değerlendirildiğinde normal kategoriye giren sperm sayısı daha fazla olmaktadır(3).

Normozoospermia semenin normal parametreleri

Oligozoospermia sperm konsantrasyonu <15 milyon

Asthenozoospermia <%40 progressif ilerlemesi veya <%32'sinde hızlı progresyon

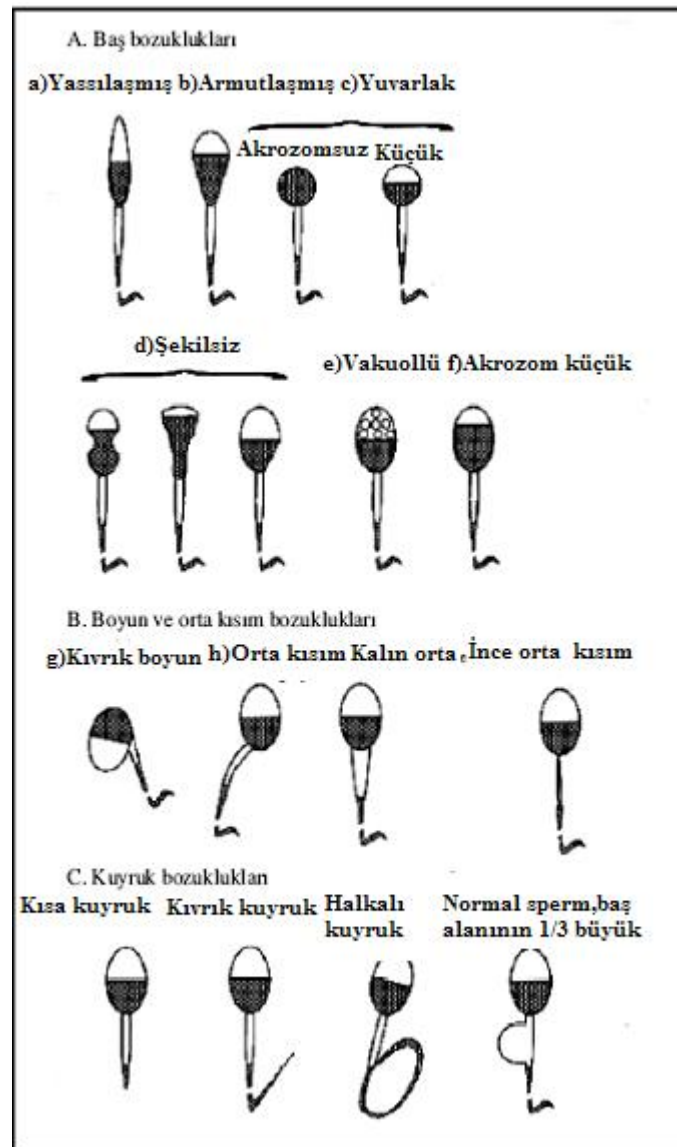
Teratozoospermia <%4 normal formda

Kriptoospermia Semen ilk mikroskopik inceleme sonrasında spermatozoa bulunmaması, santrifugasyon sonrası pellette spermatozoa bulunması

Azoospermia	Semen içinde hiç canlı spermatozoa olmaması
Aspermia	Hiç ejakulat olmaması

Sperm morfolojisinin değerlendirilmesinde; bir spermatozoanın normal olarak kabul edilebilmesi için spermin başı, boynu, orta kısmı ve kuyruğu normal olmalıdır. Başın şekli oval olmalıdır. Fiksasyon ve boyama etkisinden kaynaklanan hafif azalmayı da hesaba katarak başın boyu 4.0-5.0 μm ve genişliği de 2.5-3.5 μm olmalıdır. Boyun, genişliğe oranı 1.5 ile 1.75 arasındadır. Baş bölgesinin %40-%70'ini kapsayan iyi belirlenmiş bir akrozomal bölge olmalıdır. Orta kısım ince uzun ve genişliği 1 μm 'den az, boyu baş uzunluğunun 1.5 katı ve başa aksiyel olarak bağlanmış olmalıdır. Sitoplazmik artıklar normal baş alanının yarısından az olmalıdır. Kuyruk düz, düzgün biçimli, orta kısımdan ince, kıvrılmamış ve yaklaşık 45 μm uzunlukta olmalıdır. Bu sınıflandırma şemasına göre bütün sınırdaki şekiller anormal kabul edilir(7).

Aşağıdaki morfolojik defekt sınıflandırma kategorileri dikkate alınmalıdır. Baş defektleri sırasıyla geniş, küçük, yassı, armutlaşmış, yuvarlak, şekilsiz başlar; vakuollü başlar (baş alanının %20'den fazlası boyanmamış vakuoler alanlarla kaplı). Küçük akrozomal bölge içeren başlar (Baş alanının %40'ından azı) ve çift başlılar veya bunların herhangi bir kombinasyonu bulunabilir. Boyun ve orta kısım defektleri sırası ile bunlar; bükük boyun (boyun ve kuyruk başın uzun eksenine 90°den büyük bir açı yaparlar), orta kısmın başa asimetric girişi, kalın ve şekilsiz orta kısım, anormal derecede ince orta kısım (Örn: Hiç mitokondrial kılıf yok); veya bunların herhangi bir kombinasyonu bulunabilir. Kuyruk defektleri sırasıyla kısa, birden çok, u-şeklinde kıvrık, kırık veya bükük kuyruklar (>90°). Düzensiz genişlikte kuyruklar, halkalı kuyruklar, veya bunların herhangi bir kombinasyonu bulunabilir(7).



Şekil 2.1. İnsan spermatozoalarının bazı anormal şekillerinin şematik çizimi (3,7).

A. Baş bozuklukları. (a) Yassılaştırmış, (b) Armutlaştırmış (c) yuvarlaklaşmış, küçük ve akrozom var veya yok (d) şekilsiz (e) vakuollü (f) Akrozomal alan küçük.

B. Boyun ve orta kısım bozuklukları. (g) Kıvrık boyun (h) orta kısmın asimetrik girişi, kalın orta ve ince orta kısım

C. Kuyruk bozuklukları. Kısa kuyruk , kıvrık kuyruk, halkalı kuyruk , normal sperm baş alanının 1/3'den büyük

Endokrin değerlendirme; FSH'nın spermatogenezisin regülasyonunda çok önemli bir rolü vardır, serum FSH düzeyinin ölçülmesi çok faydalıdır. Genel olarak

FSH düzeyinin artışı testikuler hasarla ilişkilidir. Eğer hastada küçük testis varlığında FSH düzeyi normal ve düşük ise hipotalamopituiter hastalık düşünülmelidir(7).

Testis biopsisinde azospermik hastalarda testis dokusunun mikroskopik değerlendirilmesi yapılır(7,16).

- Hipospermatogenezis, sertoli hücreleriyle ilgili olarak absolut germ hücre sayısında azalma ile karakterizedir.
- Sertoli cell-only sendromu, testikuler dokunun büyük çaplı analiz sadece sertoli hücrelerinin varlığını gösteren ve tüm spermatogenetik hücrelerin yokluğunu gösteren germ hücre aplazisi olarak bilinir.
- Maturasyon arrest, matur spermin oluştuğu ve spermatogenezin kesintiye uğradığı durumdur. Spermatogenezin herhangi bir safhasında duraklama olmasıdır ve fakat bu durum en çok primer spermatositleri etkilemektedir.

Tablo 2.2. Erkeklerde endokrin değerlendirme (7).

Klinik durum	FSH	LH	Testosteron	Prolaktin
Normal spermatogenez	Normal	Normal	Normal	Normal
Hipogonadotropik hipogonadizm	Düşük	Düşük	Düşük	Normal
Anormal spermatogenez	Yüksek	Normal	Normal	Normal
Hipergonadotropik hipogonadizm	Yüksek	Yüksek	Normal/Düşük	Normal
Prolaktin salan pitüiter tümör	Normal/Düşük	Düşük	Düşük	Yüksek

2.2.6. Erkek İnfertilitesinde Genetik Faktörlerin Rolü

Birçok azospermik ve oligoastenoteratospermik infertil erkekte infertilitenin etyolojisinde bir kromozomal anomali taşıyıcılığı veya Y kromozom mikrolelesyon varlığı spermatogenetik yetmezliği büyük olasılıkla açıklar. Birçok sayısal veya yapısal kromozomal anomali, spermatogenetik yetmezliğe sebep olan önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Resiprokal seks-otozomal kromozom translokasyonu, farede ve insanda primer spermatosit aşamasında pakiten/metafaz I evresinde spermatogenetik duraklamaya sebep olduğu gösterilmiştir(2). Robertsonian translokasyon, dengeli translokasyon, inversiyon ve marker kromozomlar gibi

PDF Eraser Free

yapısal kromozom anomalileri infertil erkeklerde daha fazla görülür. Translokasyon saptanan infertil erkeklerde oligozoospermi daha sık rastlanan bir bulgudur ve sıklığı % 1.9 ile %3.1 arasındadır(36,40).

Y kromozomu mikrolelesyonu azoospermik hastaların %10-15'inde görülür(8,21). AZFa, AZFb ve AZFc olmak üzere üç farklı mikrolelesyon bölgesi vardır. AZFc delesyonlarında ejakulatta spermatozoa bulunabilir. AZFa ve AZFb delesyonlarının prognozu ise daha kötüdür ve sıklıkla SCOS ile ilişkilidir(9). Tsujimura ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada AZF delesyonu olan ve olmayan hastalar arasında testis volümü, endokrinolojik anormallik ve spermatozoa bulma oranı arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Buna rağmen günümüzde azoospermik hastalarda TESE öncesi karyotip analizi ve Y kromozom mikrolelesyonu bakılması önerilmektedir(10,11).

Y kromozom mikrolelesyonlu bir erkeğin oğullarında da mikrolelesyon görülecek ve infertilite sorunu görülecektir. Y kromozomu mikrolelesyonlarının başka sağlık sorunlarına yol açmadığı bilinmekle beraber, bu babaların oğullarına ait fenotipik özellikleri araştıran fazla çalışma yoktur(16).

AZF bölgelerinde spermatogenezden sorumlu bir düzine gen bulunmaktadır. Y kromozomunun tekrardan zengin heterokromatin bölgesine male spesifik Y bölgesi denir. Male spesifik Y (MSY) bölgesi fiziksel haritası ve dizisi, Skaletsky ve ark. tarafından tamamlanmıştır. Bugünkü bilgilerimize göre MSY, 156 transkripsiyon bölgesini içeren 78 genin kodladığı 27 protein içerir. Örneğin; bir transkripsiyon faktörünü kodlayan ve normal fertil erkeklerde bulunan DAZ (deleted in azoospermia) geni, AZFc bölgesinde yer almaktadır. Amplikonik dizileri 60 kodlayan gen ve 74 kodlamayan transkripsiyon ünitesi içerir ve sadece testis dokusunda eksprese olur. Y kromozomundaki delesyon yerine göre spermatogenez üzerine önemli etkiler yapabilir. Y kromozomundaki delesyon AZFc bölgesinde ise çoğu hastada ejakulatta sperm bulunur; ancak sperm sayısı ciddi oranda azalmıştır. AZFc delesyonu, şiddetli oligozoospermik ve azoospermik erkeklerde %2-10 oranında görülmektedir. Bu hastalardaki sperm üretimi testiküler biyopsi ile ekstrakte edilebilecek yeterliliktedir. Eğer delesyon AZFb bölgesini etkiliyorsa geniş testiküler biyopsiler alınsa da sperm bulunma şansı çok düşük hatta hiç yoktur. AZFb

PDF Eraser Free

delesyonu bulunanlarda AZFa delesyonu bulunanlara göre sperm toplama şansı düşük olabilir(7,16,18).

2000 yılından itibaren AZFc delesyonu olan hastalarda spermilerin dondurularak korunması işleminin önemi anlaşıldı. AZFc delesyonu olan oligozoospermik hastalarda sperm sayısının zamanla daha azaldığı görüşü önem kazanmıştır. Bu açıdan AZFc delesyonu bulunan hastalarda spermilerin dondurularak saklanması ileride yaşanacak infertilite problemine çözüm sağlar(8).

Tablo 2.3. Y kromozom üzerindeki genler(19).

SHOX CSF2RA IL3RA ANT3 ASMT XE7 MIC2 XGPYPAR1		Pseudootozomal Bölge (PAR 1)		
SRY (=TDF) RP4Y ZFY TSPY-A PRKY AMELY TSPY-B } GBY		Interval 1		dY
		Interval 2		
		Interval 3		
.....(Ycen (DYZ3))	4B	Interval 4	Yc	
GCY DFFRY (USP9Y) DBY UTY TB4Y } [AZFa] GCY KALY BYP1 STSP YRRM1 YRRM2 } RBM genleri CDY XKRY SMCY EIF1AY RBM1 RBM2 PRY TTY2 SY153 [AZFd] } [AZFb] DAZ1 DAZ2 (SPGY) BPY2 PRY CDY } [AZFc]	5A	Interval 5	Yd	
	5C			
	5D			
	5E			
	5G			
	5I			
	5K			
	5L			
	5O			
	5Q			
6A	Interval 6			
6B				
6C				
6E				
6F				
HETEROKROMATİK BÖLGE (DYZ1)PAR2		Interval 7		Yφ
SYBK1 IL9R				

PDF Eraser Free

AZFa bölgesi Yq proksimalinde interval 5'de yer alır ve 400-600kb uzunluğunda olduğu tahmin edilmektedir. AZFa bölgesinde ilk tanımlanan aday gen DFFRY (Drosophila fat facet related Y) geni veya diğer isimle USP9Y (Ubiquitin spesifik proteaz 9) spermatogeneziste rol alan önemli bir genidir. Foresta ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada sadece bir grupta USP9Y veya DBY geni içeren delesyon rapor edilmiştir ve 1600'den fazla hastada başka bir bölgede delesyon bulunmamıştır(16). Birçok çalışma AZFa bölgesinde birden fazla genin yer aldığını göstermiş, bunlardan başlıcaları DBY ve UTY genleridir. DBY geni 17 ekson içerir ve ATP bağımlı RNA helikazı kodladığı varsayılır, fakat germ hücrelerinin gelişimindeki rolü henüz bilinmemektedir. USP9Y geni, diğer genlerle birlikte AZFa delesyonu saptanan hastalarda spermatogenez duraklamadan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. AZFb bölgesi, interval 6 delesyon bölgesinde yer alır, 1-3Mb DNA içerir. 2 tane aday gen içeren AZFb, RBMY (RNA binding motif on the Y) ve EIF1AY (Translation initiation factor 1A) aday genleridir. EIF1AY geni, translasyonun başlaması için gereklidir. RBMY geni, spermatogenez boyunca birçok farklı fonksiyonu olabileceği düşünülmektedir. AZFb delesyonu olan hasta grubunun büyük bir kısmı infertilite fenotipine sahip azospermik, geri kalan kısmı ise şiddetli oligozoospermiktir. AZFb çeşitli varyasyonlarda delesyon görülür, vakaların yaklaşık yarısında spermatogenez arrest saptanır(18).

AZFc bölgesi distalde delesyon interval 6'da bulunur ve 3.5 Mb DNA içerir. Bu bölgede spermatogenez de görevli 7 adet gen ailesi bulunmaktadır. AZFc 'de ilk tanımlanan aday gen DAZ (Deleted in azospermi)'dır, DAZ geniyle birlikte 7 tane aday gen tanımlanmış, bunlar CDY1 (chromodomain Y1), BPY1, BPY2 (Basic protein Y), PRY (PTA BL related Y), TTY1 ve TTY2 (testis traskript 2) genleri haritalanmıştır(18). 1999 yılında Kent-First AZFc bölgesinin proksimalinde AZFd bölgesini tanımlamıştır, AZFd bölgesi spermatogenez ile ilgili gen ihtiva etmediği saptanmıştır(26). Uluslararası Androloji dergisinde yayınlanan çalışmada 34 farklı Y kromozom mikrodelesyonu olan hastanın AZFc bölgesine ait delesyonu sıklığı tüm delesyonların %79'u, AZFb delesyonu %9'u, AZFb+c delesyonu %6'sı, AZFa delesyonu %3'ü ve AZFa+b+c delesyonları %3 olarak bildirilmiştir(8). İnsidansın farklı olmasının sebebi olarak; çalışma metodolojisi, hasta seçim kriterleri ve kullanılan STS'lerin farklılığından kaynaklanabilir (19).

PDF Eraser Free

Tablo 2.4. AZF aday genleri(18).

Gen	Uzunluk	Sıklığı	Aday gen	Fenotip
AZFa	792 kb	%1-2	DDFRY,DBY	SCO sendromu
AZFb	1-3Mb	%2-10	RBMV	Maturasyon arrest ve hipospermatogenesis
AZFc	3.5Mb	%70-90	DAZ,CDY	Şiddetli oligozoospermi, azoospermi'ye kadar farklı fenotipler

Erkek infertilitesinde son zamanlarda yapılan genetik çalışmalar Y kromozomunda en az 15 yeni gen ailesi varlığı tanımlanmıştır(14). AZF bölgesinde bulunan bu gen ailesinden en önemli 4 aday gen tanımlanmıştır. AZF bölgesindeki güçlü aday genlerden ikisi testis dokusuna spesifiktir; RNA binding motif gen ailesi AZFb bölgesinde yer alır, DAZ geni (deleted in-azoospermia) AZFc bölgesinde yer alır(17). DDFRY (Drosophila fat facets related Y), DDFRX geninin Y kromozomundaki homologudur ve fertilité için aday bir gendir ve AZFa bölgesinde yer alır. CDY (Chromodomain Y) testis dokusuna spesifik eksprese olan AZF için potansiyel aday gen olan ve spermatogenezis için önemli bir bölgede lokalize olduğu bilinmektedir(26).

Tablo2.5. Gen isimleri ile eksprese olduğu dokular ve Y üzerindeki kopya sayısı (14)

Gen Sembolu	Gen İsmi	Eksprese olduğu doku	Y üzerindeki kopya sayısı	Homologunun lokalizasyonu
DBY	Dead box Y	Tüm dokular	Tek	X
TB4Y	Timozin β 4Y	Ubiquitous	Tek	X
EIF1AY	Translasyon initiation factor 1A	Ubiquitous	Tek	X
UTY	UbiquitousTPR motif Y	Ubiquitous	Tek	X
DFFRY	Drosophila fat facets related Y	Ubiquitous	Tek	X
CDY	Chromodomain Y	Testis	Multipl	
BPY 1	Basic protein Y1	Testis	Multipl	
BPY 2	Basic protein Y2	Testis	Multipl	
XKRY	XK related Y	Testis	Multipl	
PRY	PTB-BL related	Testis	Multipl	
TTY1	Testis transkript Y1	Testis	Multipl	
TTY2	Testis transkript Y2	Testis	Multipl	
TSPY	Testis spesifik protein Y	Testis	Multipl	
RBM	RNA recognition motif	Testis	Multipl	X
DAZ	Deleted in azoospermia	Testis	Multipl	3 kromozom

2.2.7. Erkek İnfertilitesi Tedavisi

Testis sperm ekstraksiyonu (TESE) öncesinde her hastanın fizik muayenesinin yapılması ve ayrıntılı anamnez alınması gerekmektedir. Böylece travma, orşit, varikosel, inguinal operasyon, radyoterapi, kemoterapi, inmemiş testis, Klinefelter sendromu, kistik fibrozis gibi azoospermiye neden olan faktörler ve hastalıklar ortaya çıkarılmış olur. Non-obstruktif azoospermik hastalarda TESE öncesi testislerde spermatozoa olup olmadığını gösterecek herhangi bir klinik test yoktur. Fakat spermatozoa bulma oranını etkilediği düşünülen parametreler bulunmuş ve bu parametreler ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu konu ile

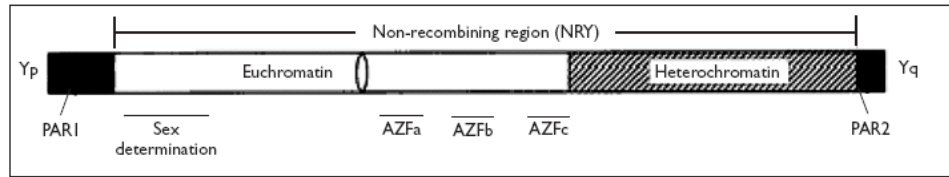
PDF Eraser Free

ilgili en çok yapılan çalışmalar testis volümü, FSH düzeyi, daha önce yapılan testis biyopsisi sonucu ve kromozomal anomalilerinin bulunup bulunmaması üzerinedir(13).

A) Testis volümü: Normal volümlü testis ile düşük volümlü testis arasında spermatozoa bulma oranı arasında anlamlı bir ilişki saptanmaması, testis volümü düşük olan hastalarda spermatozoa bulma oranının daha düşük olabileceği teorisinin doğru olmadığını göstermiştir. Amer tarafından yapılan bir çalışmada normal volümlü testislerin %44'ünde, küçük volümlü testislerinde %25'inde spermatozoa bulunmuş ve testis volümleri 5 ml'den az olan olgularda bile spermatozoa bulunabileceği gösterilmiştir. Günümüzde testis volümü çok düşük olan hastalarda bile TESE uygulanmasının gerekli olduğu kabul edilen bir görüştür(6,13).

B) Serum FSH düzeyi: Hipotalamustan salgılanan GnRH aracılığıyla hipofizden salgılanan FSH, sertoli hücrelerini uyarır. FSH düzeyi seminifer tubüllerdeki spermatogonium miktarını yansıtır, spermatozoaların oluşumunu düzenler. Dolayısıyla serum FSH düzeyinin normal olması spermatozoa bulma ihtimalini arttırmayacağı gibi yüksek FSH düzeyi de spermatozoa bulunmayacağı anlamına gelmez(6,13).

C) Y kromozomu mikrodelsiyonu: Oligozoospermiye veya azoospermiye yol açan mikrodelsiyonların çoğu Y kromozomu uzun kolu boyunca (Yq11) yer alır(13).



Şekil 2.2. Y kromozomunun şematik yapısını gösteren diagram(16).

TESE, azoospermik hastalarda testisten sperm elde etmek için uygulanan üremeye yardımcı tedavi metodudur. Daha önce TESE işlemi testisin sadece bir odağından biyopsi alınarak yapılmaktayken günümüzde çoklu biyopsilerle yapılan TESE sonrasında spermatozoa bulma oranının arttığı görülmüştür. Amer, non-obstruktif azoospermik hastalarında tek bir odaktan alınan biyopsi ile % 37.5 oranında, çoklu biyopsilerle % 49 oranında spermatozoa elde etmiştir. Biyopsi

PDF Eraser Free

sayısının artırılması her ne kadar intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) yapılma şansını da artıracak olmakla birlikte, bu işlem önemli risklerde taşımaktadır. Doku travması ve kaybının küçük testislerde serum testosteronunda geçici düşüş yapması da olasıdır. Non obstrüktif azospermik (NOA) hastalarda TESE sonrası spermatozoa bulma oranı ortalama %50 olup ICSI sonrası % 35 ile % 52 arasında gebelik gerçekleşebilmektedir(11,13,15).

NOA hastalarında sperm kalitesi obstrüktif azospermi hastalarına göre daha düşüktür. Dolayısıyla buna bağlı olarak fertilizasyon, embriyo implantasyonu ve gebelik oranları da daha düşüktür. NOA olgularında ilk TESE denemesinde sperm bulunamayan olgularda belirli bir süre sonra işlemin tekrarlanması önerilmektedir. Günümüzde iki TESE işlemi arasında en az 6 ay zaman aralığı olması gerektiği fikri kabul görmüştür. Schlegel ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 6 aydan önce ve sonra ikinci kez TESE yapmış ve spermatozoa bulunma oranları sırasıyla %25 ve %80 olarak bulmuştur. TESE, önce konvansiyonel çoklu biyopsilerle yapılmaktayken günümüzde birçok merkezde mikrodiseksiyon yöntemi ile (mikro TESE) uygulanmaktadır. Mikro TESE ilk defa Schlegel tarafından 1999 yılında tanımlanmıştır. Maksimum TESE uygulama sayısı 4 olarak önerilmektedir. Daha fazla girişim hücre bulma şansını artırmamaktadır(11,12).

TESE işlemi genel, spinal veya spermatik kord ve skrotal cildin yüzeysel lokal anestezileri ile yapılır. Ardından orta hat üzerinden veya her iki hemiskrotuma ayrı ayrı insizyonlarla skrotal kesi yapılarak işleme başlanır. Obstrüktif veya hipospermatogeneze bağlı azospermi olgularında, tek testisten sperm bulma olasılığı yüksek olduğu için, bunlarda tek taraflı kesi tercih edilebilir. Tunika vajinalis açılarak o taraf testis dışarı alınır. Epididim ve vaz deferens obstrüktif bulgular ve konjenital anomaliler bakımından muayene edilir(13).

ICSI (İntrastoplazmik sperm injeksiyonu), başarılı bir TESE işlemi sonrasında elde edilen canlı spermatozoanın mikroenjeksiyonla oosit stoplazmasına enjekte edilmesi işlemine denir. İn vitro ortamda yapılan bu işlemler sonrasında elde edilen embriyo, kalitesi iyi ise uterusu transfer edilir(21,23,28). Günümüzde embriyo kalitesi embriyoya ait 4 parametre ile değerlendirilir; hücre sayısı, hücrelerin eşit büyüklükte olup olmaması, fragmantasyon varlığı ve bunun embriyo hacmine göre oransal yüzdesi. Fragmantasyon arttıkça, embriyo kalitesi(grade) düşer ve gebelik

PDF Eraser Free

canlı spermlerin uygun koşullarda saklanmasıdır. Daha sonra ovulasyon indoklendikten sonra toplanan oosite spermin injeksiyonu gerçekleştirilir. Bu işlemden sonra embriyonun kalitesi, sayısı ve gelişimi yeterli olursa en iyi embriyo uterusu transfer edilir(23). Bolton ve ark. tarafından yapılan çalışmada embriyonun sayısı ve fragmentasyon oranına göre bir skortlama sistemi geliştirilmiştir. Bu skortlama sistemine göre embriyonun kalitesi hiç fragmentasyon yoksa mükemmel, %10 fragmentasyon varsa iyi, %10'dan fazla fragmentasyon varsa kötü olarak değerlendirilmiştir. Van Golde ve ark. tarafından yapılan çalışmada erkek infertil 300 hastadan 8'inde AZFc delesyonu bulunmuş, bu hastalarda fertilizasyon oranında ve embriyo kalitesinin nedenini açıklayamadıkları bir duşukluk saptamışlardır. AZFc delesyonu olan hastalarda spermatogenezis olumsuz etkilenererek spermin fertilizasyon yeteneğinin duşuk olacağını ileri sürmüşler(23).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay tarihi: 06.07.2010 karar sayı:121 onay alındıktan sonra 2007-2010 yılları arasında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji A.B.D.'dan Tıbbi Genetik polikliniğimize gelen non-obstruktif azoospermik (NOA) ve şiddetli oligozoospermik 97 infertil erkek hastada yapılan hormon analizi (FSH,LH, testosteron) sonuçları değerlendirildi, 97 azoospermik ve oligozoospermik ICSI uygulanan vakada fertilizasyon sonuçları değerlendirildi. Aynı hasta grubunda testis biopsisi yapılan 50 hastanın sonuçları değerlendirildi.

3.2. Gereçler

3.2.1. Çalışmamızda Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- PAA tam besiyeri
- Tripsin
- Gurr buffer
- Leishman boyası
- Qiagene QIAamp blood kit
- Proteinaz K
- Atto mol YDDS (Y deletion detected system)
- Hot Taq Polimeraz
- Agaroz
- Etidyum bromür
- Distile su

3.2.2. Çalışmamızda Kullanılan Gereçler

- Zeiss ışık mikroskobu
- Olympus CX31 ışık mikroskobu
- Cytovision analiz programı, version 3.93
- CCD kamera sistemi
- Spektrofotometre (Nano Drop 1000)
- Jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (Gene Genius)

PDF Eraser Free

- Elektroforez aleti (Consort E844)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Mikro Pipet takımı (Gilson)
- Su banyosu (Nüve)
- Vorteks (Heidolph)
- Thermal cycler (Gold 96 Well GenAmp PCR System 9700 ABI PRISM)

3.3. Yöntem

Erkek infertilitesinin olası etyolojik faktörleri sorgulanıp

- Obstruktif azoospermik hastalar
- Testis malignitesi, kemoterapi ve radyoterapi öyküsü olanlar
- Öyküsünde vazektomi operasyonu olanlar
- Konjenital vaz deferans yokluğu olanlar
- Orşit, travma, orşiektomi öyküsü olan ve endokrin problemleri olanlar çalışma dışında tutuldu.

Azoospermik ve şiddetli oligozoospermik vakalardan alınan periferik kan lenfosit örneklerinden GTL (Giemsa Tripsin Leishman) bantlama kullanılarak karyotipleme yapılmıştır. Her bir hastadan 20 metafaz değerlendirilmiştir. Tüm kromozom anomalileri güncel ISCN (International Standard Cytogenetics Nomenclature) yazım kurallarına göre rapor edildi (Mitelman,2005). Tüm kromozom anomalisi saptanan hastalara genetik danışması tanı sırasında verilmiştir.

Azoospermik ve oligozoospermik vakalardan alınan kan örneklerinden elde edilen DNA örneklerinin multipleks PCR yöntemiyle Y kromozomu üzerindeki AZF bölgelerine ait STS primerleri kullanılarak 97 azoospermik ve şiddetli oligozoospermik vakada Y mikrolelesyonu araştırıldı. Ayrıca erkek faktörü olan infertil 97 vakanın kromozom analizi değerlendirildi. Bu vakaların 50'sinde ESOGÜ Tıp Fakültesi Üreme Sağlığı Merkezinde yapılan TESE (testiküler sperm ekstraksiyonu) sonuçları değerlendirilmiştir. TESE sonucunda matür sperm bulunan 97 vakanın intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) uygulaması sonrasındaki gebelik sonuçları araştırıldı.

PDF Eraser Free

PCR analizi öncesi kandan Qiagen QIAamp blood kit kullanılarak elde edilen genomik DNA örnekleri, 0,2 mL'lik STS spesifik PCR mikisini içeren 10 ayrı tüpe kondu. Her tüpte toplam 15 µl olacak şekilde; 2 µl'lik hasta DNA'sı, 0,15 µl Taq polimeraz, 10 µl miks A, 3 µl miks B kondu. Thermalcycler cihazının programı aşağıdaki şekilde ayarlanır:

Başlangıç denaturasyonu için 95°C 5 dk, 30 döngü 94°C'de 15 sn, 60°C 15sn (annealing) ve 72°C 15sn (ekstansiyon), son uzama 72°C'de 5 dk da tamamlandı. 4°C'de saklandı.

Amplifiye olmuş örnekler % 2'lik agaroz jelde 140V 90 dk oda ısısında yürütülmüştür. Amplifiye olan DNA örnekleri 505bp'lik internal kontrole karşılaştırılmıştır. Amplifiye olan DNA örnekleri jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir. Non obstruktif azospermik ve oligozoospermik hastaların moleküler analizinde toplam 10 sequence tag sites (STS) primerleri kullanılmıştır. Y mikrodelyasyonunu saptamak için kullanılan STS primerleri sY84, sY85 (AZFa), sY127, sY134 (AZFb), sY157, sY254, sY255, sY152, sY153 (AZFc) içerir. PCR'ın internal kontrolü olarak ZFX/ZFY geni kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Farklı STS lokusuna ait PCR ürünleri ve internal kontrol.

Tüp Numarası	AZF bölgesi	LOKUS	PCR ürünü (bp)	
			Lokus	Internal Kontroller
1	AZFc	sY 254	350	505
2	AZFa	sY 84	326	505
3	AZFa	sY 86	320	505
4	AZFb	sY 141	290	505
5	AZFc	sY 160	238	505
6	AZFc	sY 158	231	505
7	AZFb	sY 142	196	505
8	AZFc	sY 152	125	505
9	AZFc	sY 233	115	505
10	AZFc	sY 147	100	505

PDF Eraser Free

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for Social Science) programının Windows için version 16.0 kullanılarak FSH değerlerinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk's test ile test edildi. Her bir grup ile (gebelik sonuçları, AZF delesyonu ve karyotip sonuçları) ile FSH değerlerinin karşılaştırılmasında Mann Whitney-U testi kullanıldı. Genetik anomalili grup ile genetik anomali saptanmayan grubun gebelik sonuçlarını karşılaştırmak için Ki-kare testi kullanıldı. Verilerin özetlenmesinde medyan (min,max) değerleri kullanıldı. $P < 0,05$ değeri, istatistiksel anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında azospermik ve oligozoospermik tanısı almış 97 erkek infertil hastadan yapılan kromozom analizi ve Y mikrolelesyon analizi, azospermik ve oligozoospermik gruptaki hastaların sonuçları aşağıdaki tabloda karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.1. Azoospermik ve oligozoospermik hasta grubunda kromozomal anomali, Y mikrolelesyonu ve genetik anomali olup olmadığının istatistiksel karşılaştırılması

		Azoospermik grup (n=73)	Oligoastenoterato spermik grup (n=24)	Toplam N=97	P değeri
Y kromozom mikrolelesyon	Var	2	-	2 (%2)	P>0,05
	Yok	71	24	95	ns
Kromozomal anomali	Var	13	3	16 (%16)	P>0,05
	Yok	60	21	81	ns
Genetik anomali	Var	15	3	18 (%18)	P>0,05
	Yok	58	21	79	ns

Kromozom anomalisi saptanan 16 hastadan 13 tanesi 47,XXY, birinde 46,XY,14ps+, maternal kaynaklı olduğu bilinen bir vakada 13. ve 14. kromozom arasında translokasyon saptandı ve birinde Y kromozomu ile 12. kromozom arasında translokasyon saptandı. Y kromozom delesyonu saptanan hastaların tamamında AZFc bölgelerinin delesyonu saptandı. AZFa ve b delesyonu saptanan hastamız bulunmamaktadır. Bu hastalardan 4'ünün babası hayatta olmadığı için Y kromozom delesyonu açısından değerlendirilemedi, kalan 1 hastanın babasında Y kromozom delesyonu saptanmadı ve bu vaka de novo olarak değerlendirildi.

97 hastanın FSH düzeyi değerlendirildi, 97 hastadan elde edilen veriler (Y kromozom delesyonu, kromozom anomalisi olan, genetik anomalisi olan ve olmayan) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Kromozom anomalisi olan 16 vakadan üçünde ICSI sonrası klinik gebelik sağlanmıştır, bir vakada biyokimyasal gebelik sağlanmıştır ve fakat klinik gebelik

sağlanmamıştır. Y kromozom delesyonu saptanan 2 hastada embriyo gelişimi olmadığı (Grade 3) için embriyo transferi yapılamamıştır.

Tablo 4.2. Kromozomal anomali ve Y mikrolelesyonu olan veya olmayan hastalarda FSH düzeyinin karşılaştırılması

		N:97	FSH düzeyi	P değeri*
Y kromozom delesyonu	Var	2	13,48±5,324	P>0,05 ns
	Yok	95	17,76±1,629	
Kromozom anomalili	Var	16	20,22 ±1,93	P<0,001 s
	Yok	81	9,27± 1,35	

*Mann Whitney-U testi

TESE sonuçlarıyla azospermik grup ve oligozoospermik grup Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Azoospermik ve Oligozoospermik olguların testis biopsi sonuçlarının karşılaştırılması.

Biopsi sonucu (TESE)	Azoospermik n:39	Oligozoospermik n:11	Toplam n:50
Sertoli cell only sendromu	19 (%48)	8 (%73)	27 (%54)
Maturasyon duraklaması	11 (%28)	3 (%27)	14 (%28)
Hipospermatogenezis	9 (%24)	-	9 (%18)

Tablo 4.4. Y kromozom delesyonu olan ve olmayanlarla biopsi sonuçlarının karşılaştırılması.

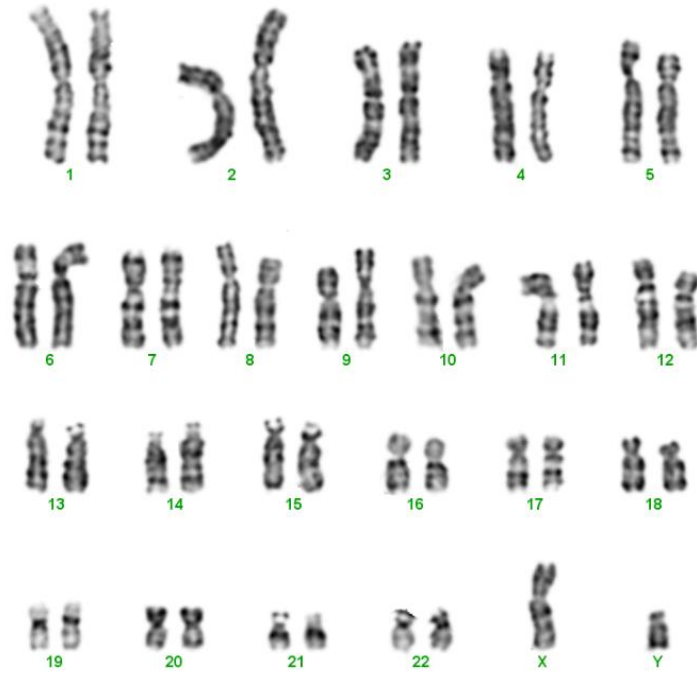
Biopsi sonucu	Y kromozom delesyonu(+)	Y kromozom delesyonu (-)	Toplam
Sertoli cell only sendromu	1 (%2)	26 (%52)	27 (%54)
Maturasyon duraklaması	1 (%2)	13 (%26)	14 (%28)
Hipospermatogenezis	-	9 (%18)	9 (%18)

PDF Eraser Free

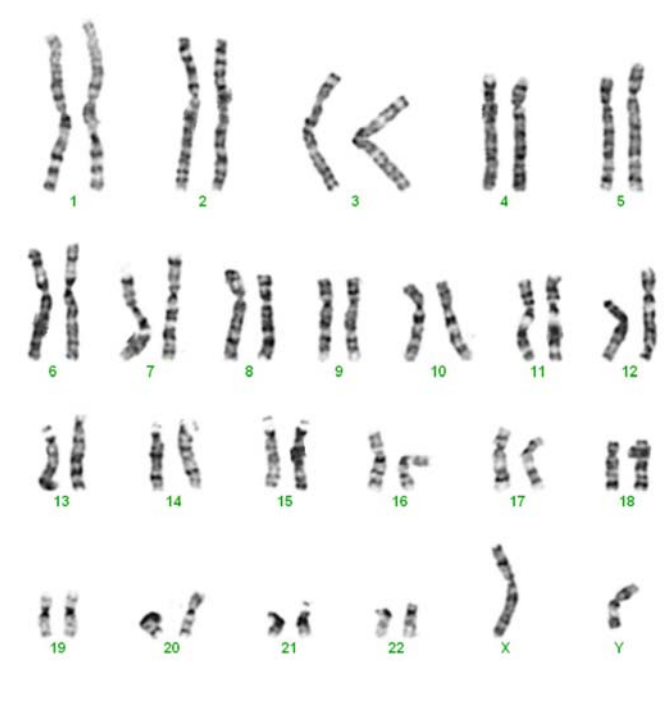
AZFc delesyonu olan 2 hastadan TESE sonrası ICSI yapılmıştır, ancak embriyo gelişimi uygun olmadığı için embriyo transferi yapılamamıştır.

Tablo 4.5. Azoospermik ve oligozoospermik vakalarda tedavi sonrası gebelik sonuçları.

Tedavi Şekli	Klinik gebelik olması	Biyokimyasal gebelik olması	Klinik veya biyokimyasal gebelik olmaması
ICSI yapılan Y mikrolelesyonlu hastalar	-	-	2 (%2.1)
ICSI yapılan kromozom anomalili hastalar	3 (%3.1)	1 (%1)	12 (%12.3)
Genetik Anomalisi olmayan ve ICSI uygulanan hastalar	22 (%22.6)	2 (%2.1)	55 (%56.7)

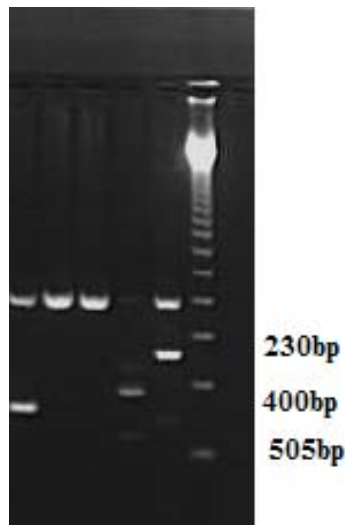


Şekil 4.1. Normal karyotipe sahip infertil bir olgu.



Şekil 4.2. Seks kromozom anomalisi olan infertil olgunun karyotipi,
46,XY,t(Y;12)(q10;q10).

Azoospermik ve oligozoospermik gruptaki hastaların tamamında AZFc bölgesinin delesyonu saptandı, bu vakaların DNA'larından yapılan multipleks PCR sonrası ürün agaroz jelde görüntülendi.



Şekil 4.3. Azoospermik iki hastanın Y kromozom mikrodelesyon varlığının jel görüntüsü. (3. ve 4. kuyular delesyonlu hastalara aittir.)

5. TARTIŞMA

İnfertilite problemi olan çiftlerin infertilite nedeninin yaklaşık %40-50'si erkek faktörden kaynaklanır. Çalışmamızda 97 non-obstruktif azospermik ve oligozoospermik erkekte kromozom analizi ile kromozomal anomaliler ve multipleks PCR yöntemiyle Y mikrolelesyonları saptanmıştır. Ayrıca hormon (FSH) sonuçları ve testis histolojisi sonuçları ile Y kromozom delesyon sonuçları karşılaştırılmıştır.

5.1. İnfertil Erkeklerde Genetik Anomalilerin Sıklığı

Birçok çalışmada infertil erkeklerde kromozom anomalisi insidansının % 2.2 ile 14.3 arasında olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da seks kromozom anomalisi azospermik grupta yüksek oranda bulunmuştur. Tiepolo ve Zuffardi, Y kromozom uzun kolunda bulunan bölgenin fertilite için gerekli olduğunu ilk tanımlayan araştırmacılar, bunların yapmış olduğu çalışmada 2542 erkek infertil hastada karyotipleme yapılmış ve 176 hastada(%6.9) seks kromozom anomalisi saptanmıştır, 40 hastada(%1.6) ise otozomal kromozom anomalisi saptanmıştır(4).

Bourrouillou ve ark. tarafından yapılan çalışmada 952 infertil erkek hastadan karyotipleme yapılmış, 65'inde(%6.8) seks kromozom anomalisi bulunmuş ve 33'ünde(%3.5) otozomal kromozom anomalisi saptanmıştır(36).

Van Assche ve arkadaşlarının geniş hasta serisinde yaptığı çalışmada karyotiplemesi yapılan 10728 erkek hastadan %3.5'unda 47,XXY karyotipi bulunmuştur. Seks kromozom anomalileri azospermik grupta daha sık(%12.6) iken, oligozoospermik grupta otozomal kromozom anomalileri daha sık görülmüştür(45). Çalışmamızda 97 hastadan 13'ünde 47,XXY, bir vakada 45,XY,t(13;14), bir vakada 46,XY,14ps+ ve birinde 46,XY,t(Y;12)(q10;q10) bulunmuştur. Klinefelter sendromlu hastaların tamamında azospermi saptanırken, robertsonian translokasyon taşıyıcı olan hastalarda şiddetli oligozoospermi saptanmıştır. Bizim çalışmamızdaki seks kromozom anomali oranının literatürdeki orana nazaran yüksek çıkmasının nedeni azospermik hasta sayısının oligozoospermik hasta sayısına göre fazla olmasıdır. Çalışmamızda otozomal kromozom anomalisinin bir hastada saptanmasını oligozoospermik hasta sayımızın azlığıyla açıklayabiliriz. İnfertil hastalarda kromozom anomalilerinin bulunduğu literatür özeti Tablo 5.1.'de verilmiştir.

Tablo 5.1. Literatürde yer alan erkek infertil vakaların seks-otozom kromozom anomali sonuçları.

Referans	Vaka sayısı	Seks kromozom anomalileri	Otozomal kromozom anomalileri	Toplam
Koulischer(1975)	1000	27 (%2.7)	6 (%0.6)	33 (%3.3)
Zuffardi&Tiepola(1982)	2542	176 (%6.9)	40 (%1.6)	216 (%8.6)
Bourrouilliou (1985)	952	65 (%6.8)	33 (%3.5)	98 (%10.3)
Kremer ve ark. (1997)	164	3 (%1.8)	1 (%0.6)	4 (%2.4)
Tüzün ve ark. (1998)	50	3 (%6)	1 (%2)	4 (%8)
Van Assche ve ark. (2001)	10728	375 (%3.5)	140 (%1.3)	515 (%5)
Klieman ve ark.(1999)	72	9 (%12.5)	3 (%4.1)	12 (%16)
Peschka ve ark. (1999)	781	10 (%1.3)	20 (%2.6)	30 (%3.8)
Chiang ve ark. (2000)	220	24 (%11)	12 (%5.4)	36 (%16.3)
Gekas ve ark. (2001)	2196	82 (%3.7)	52 (%2.4)	134 (%6.1)
Vicdan ve ark. (2004)	208	2 (%1)	5 (%2.4)	7 (%3.4)
Çalışmamız (2010)	97	13 (%13)	3 (%3)	16 (%16)

Klinefelter sendromlu vakalarda infertilitenin genellikle geri dönüşümsüz olduğu, ancak mozaik vakalarda sperm üretiminin olabileceği, nadir vakalarda da fertil olduğu bildirilmiştir. Yeni uygulanan ICSI gibi tekniklerle fertilizasyon için bir şans kazandırılmaya çalışılmıştır ve bazı vakalarda fertilité sağlanmıştır(29,30). Çalışmamızda Klinefelter sendromlu hasta grubunda, TESE sonrasında ICSI uygulanan hastalardan sadece birinde klinik gebelik sağlanmıştır. Bu nedenle Klinefelter sendromlu hastalarımızın gebelik oranları düşük saptanmıştır.

5.2. İnfertil Erkeklerde Y Kromozom Delesyon Sıklığı

Tiepolo ve Zuffardi, 6 azoospermik hastada Y kromozom uzun kolunda delesyon saptamıştır. İki vakanın babalarını değerlendirmiş ve bu hastaların babalarında delesyon bulunmadığı için bu vakalardaki delesyonu de novo oluştuğu belirtilmiştir(4). Bizim çalışmamızda 97 hastadan 5'inde Y kromozom delesyonu saptanmıştır, bu vakaların sadece biri değerlendirilebilmiştir, diğer vakaların babalarının öldüğü öğrenilmiştir. Y mikrodelesyonu olan ve babasında da Y mikrodelesyonu bakılan tek vakada ise babada delesyon bulunmamış ve vaka de novo olarak değerlendirilmiştir. Bizim sonucumuzda bu açıdan literatürle uyumlu bulunmuştur.

Foresta ve ark.'nın çalışmasında azoospermik grupta 16 hastadan 6'sında AZF delesyonu saptanmış, oligozoospermik grupta 22 hastanın 5'inde AZF delesyonu saptanmıştır(16).

Vicdan ve ark.'nın 208 infertil erkekte yaptığı çalışmada 119 azoospermik hastanın 17(%14.3)'sinde Y kromozom delesyonu, 89 oligozoospermik hastadan 2(%2.2)'sinde toplamda 19 hastada (%9.1) Y kromozom delesyonu bulunmuştur (20).

Van Golde ve ark.'nın sperm sayısı 1.000.000/ml'den az (oligozoospermi) 300 erkek hastada yaptığı Y kromozom delesyonu çalışmasında 8 (%2.7) hastada delesyon saptanmıştır ve delesyonların tamamı AZFc bölgesini ait delesyon saptamıştır, AZFa, b bölgelerine ait delesyon saptanmamıştır(23). Bizim çalışmamızda ise 97 azoospermik ve oligozoospermik erkek hastadan azoospermik gruptaki 2 hastada AZF delesyonu bulunmuştur ve toplam Y kromozom delesyon sıklığı %2 olarak bulunmuştur. Çalışmamızdaki hasta sayısının fazlalığı ve kullanılan

PDF Eraser Free

STS primerlerinin özgünlüğü nedeniyle Y mikrolelesyon sıklığı, Foresta ve ark.'larının yaptığı çalışmaya göre literatür oranlarına daha yakın bulunmuştur.

Mallidis ve ark.'nın yaptığı çalışmada 1543 azoospermik ve oligozoospermik erkekte 92(%6) hastada Y kromozom delesyonu saptamıştır, bu hastalarda infertiliteyi açıklayacak başka bir sebep bulunmadığı için idiopatik infertilite olarak sınıflandırmıştır(33). Çalışmamızdaki 97 erkek infertil hastanın 5'inde (%5) Y kromozom mikrolelesyonu bulunmuştur ve bu vakalarda infertiliteyi açıklayacak başka bir sebep olmadığı için nedeni bilinmeyen infertilite olarak sınıflandırılmıştır.

Österlund ve ark.'nın İsveç popülasyonunda 192 azoospermik ve oligozoospermik erkekte yaptığı çalışmada 13 STS primeri kullanılmıştır ve 4(%2.1) hasta AZFb kısmi delesyonu ve AZFc komplet delesyonu saptamışlardır(34). Bizim çalışmamızda Türk popülasyonundaki azoospermik 2(%2.6) hastada 10 STS primeri kullanılarak komplet AZFc delesyonu saptanmıştır. Bizim sonuçlarımızla literatür sonuçları karşılaştırıldığında oranların farklı olmasını kullanılan STS primerlerinin farklılığı ile açıklamaktayız.

Martinez ve ark.'ları 57 azoospermik ve 71 oligozoospermik hastada Y kromozom delesyonu varlığı araştırılmıştır ve 9 STS primeri kullanılarak 3 farklı bölgeye (AZFa, b ve c) bakılmıştır, AZFb ve c delesyonu 9(%7) hastada saptamışlardır. DAZ gen delesyonu 9 hastanın 8'inde bulunmuştur(35).

Chiang ve ark.'nın 12 STS primeri kullanarak 220 infertil hastada yaptığı çalışmada 22(%10) hastada delesyon bulunmuştur; 134 azoospermi hastasının 12(%9)'sinde delesyon saptanmıştır ve oligozoospermik 86 hastadan 10(%11.6)'unda delesyon saptanmıştır(37).

Pryor ve ark.'nın Kafkas popülasyonunda 98 infertil erkek üzerinde yaptığı çalışmada, 26 azoospermik vakadan birinde, 72 oligozoospermik vakadan birinde AZF delesyonu saptanmıştır(39).

Ceylan ve ark. 90 infertil Türk erkekte yaptığı çalışmada 11(%12) hasta AZF delesyonu bulmuşlardır, bu delesyonlardan 4'ü AZFb delesyonu, 6'sı AZFc delesyonu ve biri ise AZFa ve c delesyonu olarak tanımlanmıştır(41). Türk popülasyonunda yapmış olduğumuz bu çalışmada 73 azoospermik hastadan 2'sinde, 27 oligozoospermik vakadan 3'ünde AZF delesyonu bulunmuştur, fakat DAZ genine yönelik bir çalışma yapılarak karşılaştırılmaya gidilmemiştir. AZF delesyon oranları

PDF Eraser Free

arasındaki farklılığın STS primerlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşüncesindeyiz. Çalışmamızda ise azoospermik grupta 2(%2.6) hastada komplet AZFc bölgesine ait delesyon saptanmıştır.

Krausz ve arkadaşları farklı etnik populasyonlarda yaptığı çalışmada Y kromozom mikrolelesyon tiplerinin sıklığı AZFc % 60, AZFb % 35 ve AZFa % 5 oranında saptanmıştır. Bu çeşitliliğin farklı etnik populasyonların farklı çevresel faktörlere maruz kalmasına bağlı olarak ortaya çıktığını düşünmüşlerdir(44). Türk populasyonunda yaptığımız çalışmada tüm AZF delesyonu saptanan vakaların tamamı AZFc delesyonu olduğu bulunmuştur. Literatürdeki diğer çalışmalarla çalışmamız karşılaştırıldığında Y kromozom delesyonlarının sıklığında büyük farklılıklar görüldüğü dikkati çekmektedir. Genel olarak Y kromozom mikrolelesyonlarının sıklığı % 0,5-44 arasında değişmektedir. Y kromozom mikrolelesyon insidansının bu kadar farklı olmasının nedeni olarak; çalışma metodolojisi farklılıklarından, etnik farklılıklardan, hasta seçim kriterlerinin farklılığından ve kullanılan STS'lerin farklılığından kaynaklandığı düşünülmüştür(34). Yüksek sayıda STS primeri kullanımı hataya karşı koruyucu iken klinikle ilgisiz polimorfik varyantların saptanmasına yol açabilir. Bu nedenle 2004 yılında Avrupa Androloji Akademisi ve Avrupa Moleküler Genetik Kalite birliğinin desteğiyle yapılan çalışma sonucunda pratikte en kullanışlı STS paneli (en az 10 bölge içeren STS) bu kılavuzda yayınlanmıştır(8). Birçok moleküler genetik merkez de bu kılavuzu referans almakta ve belirtilen STS primerlerini kullanmaktadır. Y kromozom mikrolelesyon taramalarında STS marker veya genlerinin seçimi testin duyarlılığı ve özgüllüğü açısından son derece önemlidir(38). İnfertil hastalarda Y kromozom mikrolelesyonlarının sıklığının bulunduğu literatür özeti Tablo 5.2.'de verilmiştir.

Tablo 5.2. Literatürde yer alan erkek infertil vakalarda Y delesyon sonuçları.

Referanslar	Toplam vaka sayısı	Tanısı	Y kromozom delesyon(+)	Toplam
Tiepolo-Zuffardi ve ark.(1976)	1170	Azoo 113 Oligo 960	6 (% 5.3)	12 (%1)
Mallidis ve ark.(1998)	1543		92 (%6)	92 (%6)
Kent-First ve ark.(1996)	14	Azoo 3 Oligo 11	-	-
Qureshi (1996) ve ark.	98	Azoo 51 Oligo 47	1 (%2) 3 (%6.4)	4 (%4)
Stuppia (1996) ve ark.	33	Azoo 19 Oligo 14	4 (%21) 2 (%14.3)	6 (%18.2)
Foresta (2001) ve ark.	38	Azoo 16 Oligo 22	6 (%37.5) 5 (%22.5)	11 (%29)
Kremer (1997) ve ark.	130	Azoo 19 Oligo 111	- 7 (%6.3)	7 (%5.4)
Pryor ve ark.(1997)	98	Azoo 26 Oligo 72	1 (%1) 1 (%1)	2 (%2)
Simoni ve ark.(1997)	168	Azoo 74 Oligo 94	2 (%2.7) 3 (%3.2)	5 (%2.9)
Silber ve ark.(1998)	81	Azoo 51 Oligo 30	10 (%19.6) 4 (%13.3)	14 (%17.3)
Kleiman (1999) ve ark.	156	Azoo 128 Oligo 28	7 (% 5.4) 1 (%3.6)	8 (%6)
Martinez ve ark.(2000)	128	Azoo 57 Oligo 71	5 (%8.8) 4 (%5.6)	9 (%7)
Österlund ve ark. (2000)	192	Azoo 139 Oligo 53	4 (%2.9)	4 (%2)
Chiang ve ark.(2003)	220	Azoo 134 Oligo 86	12 (%9) 10 (%11.6)	22 (%10)
Van Golde ve ark. (2001)	300	Oligo 300	8 (%2.7)	8 (%2.7)
Vicdan ve ark.(2004)	208	Azoo 119 Oligo 89	17 (%14.3) 2 (%2.2)	19 (%9)
Ceylan ve ark.(2009)	90	Azoo 30 Oligo 30 Normo 30	5 (%16) 4 (%13) 2 (%7)	11 (%12)
Çalışmamız(2010)	97	Azoo 73 Oligo 24	2 (%2.6) -	2 (%2)

5.3. Testiküler Histopatoloji ve FSH Düzeyi İle Y Kromozom Delesyonlu İnfertil Erkekler Arasındaki İlişki

Foresta ve ark. yaptığı çalışmada 29 STS primeri kullanılarak 18 azoospermik hastadan Sertoli cell only sendromu(SCOS) bulunmuştur ve bu hastaların 10'unda Y kromozom delesyonu saptanmıştır. Y kromozom delesyonlarının Sertoli cell only sendromunun patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini ve diğer çalışmalarında onların yaptığı çalışmayı desteklediğini belirtmiştir(16). Çalışmamızda 10 STS primeri kullanılarak 39 azoospermik hastadan 19'unda biopsi sonucunda testis histolojisi SCOS bulunmuştur, 11'inde maturasyon arresti ve 9'unda hipospermatogenezis bulunmuştur. Y kromozom delesyonu bulunan 2 vakamızdan 1'inde SCOS, 1'inde maturasyon arresti bulunmuştur. Çalışmamızda bulunan AZF delesyonu AZFc 'dir, bu hastalarda aynı genotipin farklı fenotiplere neden olabildiği görülmüştür ve buna testis histolojisi ile Y kromozom delesyonu arasındaki ilişki açısından literatürdeki diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Silber ve ark. yaptığı çalışmada Y kromozom interval 6D-6F'de sınırlı (AZFc) delesyonu olanlarda genel olarak TESE sonrası sperm varlığı ile ilişkilendirmiştir, Y delesyonunun daha büyük olduğu durumlarda ise TESE sonrası sperm bulunmaması ile ilişkilendirmiştir. Bu çalışmada 15 Y kromozom mikrodelsiyonu olan non-obstruktif azoospermik erkeğin testis histolojisi rapor edilmiştir, interval 6D-6F ile sınırlı delesyonu olan 10 hastanın 8'inde yeterli sperm bulunarak ICSI yapılmıştır. Y delesyonu olan azoospermik 5 hastada sperm bulunamamıştır. AZFc delesyonu olan 10 hastadan 3 'ünde maturasyon arresti, 5 hastada SCOS ve birinde hipospermatogenezis rapor edilmiştir. Delesyonların çeşitli histolojik patternlere neden olabildiği sonucuna varmışlar (22). Bizim çalışmamızda da AZFc delesyonu bulunan vakalarda testis histolojisinin farklılıklar gösterdiği ve bu delesyonların çeşitli histolojik sonuçlarının olabileceği literatür bilgisiyle uyumlu bulunmuştur. Vogt ve ark. AZFa ve AZFb delesyonlarını, AZFc bölgesi ile karşılaştırdığında spermatogenezis bozulması ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür. AZFa bölgesindeki delesyonun histolojik olarak Sertoli cell only sendromuna yol açtığını iddia etmiştir, AZFb delesyonlarının germ hücre maturasyon arrestine yol açtığı ve AZFc delesyonları ise Sertoli cell only sendromu ve hipospermatogenezis içeren çeşitli histolojik fenotiplere sahip olduğunu

iddia etmiştir, fakat bu çalışmayı destekleyen çalışmalar bulunmaktadır(23,48). Çalışmamızda AZFa ve b delesyonu bulunan vakamız olmadığı için testis histolojisine yönelik bir karşılaştırma yapılmamıştır, fakat AZFc delesyonu açısından histolojik fenotipte çeşitlilik arz ettiği bulunmuştur. Martinez ve ark. delesyonu olan 8 vakanın genotip ve testiküler histoloji arasında korelasyon bulmamışlardır. AZFb ve AZFc delesyonu olan dört hastanın testis histoloji Sertoli cell only sendromu, AZFc delesyonu olan iki hastadan birinde Sertoli cell only sendromu ve diğerinde matur sperm bulunmuştur. AZFb delesyonu olan hastada spermatik(maturasyon) arrest tanısı konmuştur(35). Ceylan ve ark.'nın yaptığı çalışmada 11 Y kromozom delesyonu hastadan 5'inin testis histoloji sonucu değerlendirilmiştir. AZFc delesyonu olan 3 hastada SCOS, 2 hastada ise maturasyon arresti tanısı konmuştur(41). Bizim çalışmamızda Y kromozom delesyonu olan 5 hastanın testis histolojisi sonuçlarında AZFc delesyonu olan 3 hastanın SCOS, 2 hastanın maturasyon arresti olarak rapor edilmiştir. Testis histolojisi sonuçlarımız literatürdeki diğer çalışmalar gibi AZFc delesyonu olan hastalarda çeşitli fenotipte testis histolojisine sahip olduğu görüşünü desteklemiştir.

Vicdan ve ark. tarafından yapılan çalışmada Y kromozom delesyonu olan ve olmayan erkeklerde FSH hormon düzeyi ile arasında bir fark olmadığı belirtilmiştir(20). Martinez ve ark. tarafından yapılan çalışmada Y kromozom delesyonu olan veya olmayan erkeklerle FSH hormon düzeyi arasında anlamlı bir fark bulmamışlardır(35). Bizim çalışmamızda da Y kromozom delesyonu olan ve olmayan erkek hastalarla FSH hormon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Koşar ve ark. yaptığı çalışmada serum FSH, LH düzeyi, testiküler boyut ile sitogenetik anomaliler arasında ilişkiyi araştırmışlar, çalışmanın sonuçları seks kromozom anomalili hastaların küçük testis volümüne sahip FSH, LH düzeylerinin yüksek olduğunu göstermiştir(42). Çalışmamızda da seks kromozom anomalili hastalarda serum FSH düzeyinin yüksek ve testis boyutu küçük bulunmuştur. Bu açıdan çalışmamız literatürle uyum arz etmektedir.

Tablo 5.3. Testikuler histopatoloji ve Y mikrolelesyon arasındaki ilişkisi.

Foresta ve ark.	18 SCOS	10 AZF del.
Silber ve ark.	5 SCOS 3 Mat. Arrest 1 Hipospermatogenezis	10 AZFc del.
Vogt ve ark.	SCOS, Mat. Arrest, Hipospermatogenezis	AZFc del.
Martinez ve ark.	4 SCOS 2 SCOS 2 Mat. arrest	5 AZFb+c 4 AZFc del.
Ceylan ve ark.	3 SCOS 2 Mat. arrest	5 AZFc del.
Çalışmamız	1 SCOS 1 Mat. arrest	2 AZFc del.

5.4. Genetik Anomalilerinin ICSI Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Etkisi

Van Golde ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada AZFc bölge delesyonu olan hastaların ICSI uygulaması sonrası embriyo kalitesinin olumsuz etkilendiği ve fertilite oranlarının bu hastalarda düşük olduğu gösterilmiştir(23). Bizim çalışmamızda da AZFc delesyonu olan 2 hastaya ICSI uygulaması sonrasında klinik ve biyokimyasal gebelik oluşmamıştır ve bu vakalarda embriyo kalitesi iyi olmadığı (Grade3) için embriyo transferi yapılmamıştır, AZFc delesyonu olan vakalarda fertilite oranı düşüktür. Ayrıca çalışmamızda kromozom anomalili vakalarda değerlendirilmiştir ve bu vakalarda ICSI sonrası gebelik sonuçları değerlendirildiğinde, 13. kromozom ve 14. kromozom arasında translokasyonu olan bir vakada klinik gebelik saptanmamıştır. Y kromozomu ile 12. kromozom arasında translokasyon saptanan bir vakada klinik gebelik sağlanmıştır, bir Klinefelter vakasında klinik gebelik sağlanmıştır. Bir vakada da klinik gebelik sağlanmıştır ve fakat prenatal tanıda fetuste Trizomi 18 saptanması üzerine gebelik sonlandırılmıştır. Çalışmamızda genetik anomalisi olan vakalardaki ICSI sonrası gebelik oranlarının düşük olduğu saptanmıştır. Van Golde ve ark. çalışmasına benzer olarak genetik

PDF Eraser Free

anomalisi olan vakalarda fertilizasyon ve gebelik oranlarında düşük olduğu saptanmıştır.

Maiburg ve ark. tarafından 1565 ICSI yapılmış çiftte aile öyküsü genetik hastalıklar için pozitif olanların veya infertiliteye neden olan genetik faktörlere sahip olanların ICSI sonrası fertilizasyon başarı oranları karşılaştırılmıştır. ICSI tedavi sonuçlarıyla obstruktif azospermik, kromozom aberasyonu olan, Y mikrolelesyonu olan ve aile öyküsü pozitif olan hasta alt grupları karşılaştırılmış ve fakat ICSI tedavisi başarı oranları arasında ne genetik faktörler açısından aile öyküsü pozitif olanlarda, ne de genetik anomalileri olanlarda anlamlı bir fark bulunmamıştır(43). Kihale ve ark. tarafından 118 Japon azospermik ve oligozoospermik erkek üzerinde yapılan çalışmada ICSI tedavisi uygulanmıştır, 9 vakada Y mikrolelesyon bulunmuştur, bunlardan 5'i AZFc delesyonuymuş. AZFc delesyonu olan 5 hastadan 2'sinde klinik gebelik sağlanmıştır. AZFc delesyonu olan ve ICSI tedavisi uygulanan vakalarda embriyo gelişimi, fertilizasyon ve gebelik oranları karşılaştırıldığında gebelik sonuçlarını olumsuz etkilediğine dair bir sonuç bulunamamıştır, bu vakalarda gebelik başarısı van Golde ve ark. tarafından yapılan çalışmaya nazaran düşük çıkmamıştır. Y mikrolelesyonu olan hastalarda matür canlı sperm eldesi başarılı bir ICSI tedavisi için yeterli olacağı sonucuna varılmıştır(51). Çalışmamızda 97 azospermik ve oligozoospermik ICSI tedavisi uygulanan vakanın fertilizasyon ve gebelik oranları karşılaştırıldığında genetik anomalisi olan grupta gebelik oranlarının düşük olduğu saptanmıştır. Özellikle Y mikrolelesyonu olan vakalarda ICSI sonrası gebelik oranlarının düşüklüğü ve embriyo gelişiminin kötü olduğu (Grade 3) saptanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda 97 hastadan 13'ünde 47,XXY, bir tanesinde 46,XY,14ps+ ve birinde 45,XY,t(13;14) ve 46,XY,t(Y;12)(q10;q10) değerlendirilmiştir. Klinefelter sendromlu hastaların tamamında azospermi saptanırken, robertsonian translokasyon taşıyıcısı hastalarda şiddetli oligozoospermi saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 97 infertil erkek arasında azospermik 73 olgunun 2'inde (~%3) AZFc bölgelerine ait mikrolelesyon saptanmıştır. Fertil olduğu bilinen ve kontrol grubunu oluşturan 10 hastada ise ne Y kromozom mikrolelesyonu ne de kromozom anomalisi saptanmamıştır.

- Azospermik olan 73 hastadan 13'ünde ve oligozoospermik 24 hastanın ise 3'ünde toplam 16 infertil hastada kromozom anomalisi saptanmıştır. Hasta seçiminde azospermik grup ile oligozoospermik gruptaki hasta sayısının birbirine yakın seçilmelidir.
- Bizim çalışmamızdaki sonuçlarda, Y kromozom delesyonu olan ve olmayan erkek hastalarla FSH hormon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.
- Çalışmamızda Y kromozom delesyonu saptanan iki vakaya ICSI tedavisi uygulanmış, fakat gebelik sağlanamamıştır. Ayrıca kromozom anomalisi olan hastaların ICSI sonrası gebelik sonuçlarında üç klinik gebelik ve bir biyokimyasal gebelik sağlanmıştır. Genetik anomalisi olan hastalarda ICSI sonrası gebelik oranları düşük bulunmuştur, fakat genetik anomalisi olan ve olmayan hastaların ICSI sonrası gebelik başarı oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Irvine D.S. Epidemiology ve aetiology of male infertility.Hum. Reprod. 1998;13:33-44 .
2. Searle NG et al. Chromosomal anomalies that cause male sterility in the mouse also reduce ovary size. Genetical Research. 1984;44:219-224.
3. World Health Organization. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. 5th edition. Geneva. WHO Press, 2010;13-58.
4. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. Hum Genet 1976; 34:119-24.
5. Willard H.F, McInnes R.R, Nussbaum R.L. Genetics in Medicine. Thompson&Thompson 2007;99-101.
6. Arthur C. Guyton. Textbook of medical physiology Eighth Edition 1991; 887-889.
7. Serdar Günalp. Kadın Doğum Hekiminin erkek faktörünün araştırılması ve değerlendirilmesindeki yaklaşım ne olmalıdır? TJOD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi 2004;7:129-140.
8. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EQMN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y microdeletions. State of the art 2004 International Journal of Andrology. 2004;27:240-49.
9. Krausz C, Quintana-Murci L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? Hum Reprod 2000; 15(7): 1431-4.
10. Tsujimura A, Matsumiya K, Takao Y, Miyagawa Y, Koga M, Takeyama M. Clinical analysis of patients with azoospermia factor deletions by microdissection testicular sperm extraction. Int J Androl 2004; 27(2): 76-81.
11. Schlegel PN, Su LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. Hum Reprod 1997; 12: 1688-92.
12. Schlegel PN. Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. Hum Reprod 1999;14(1):131-5.5.
13. <http://androloji.org.tr/images/File/24sayipdf/infertilite5.pdf>

14. Ma K, Sharkey A, Kirsch S, Vogt P, Keil R, Hargreave TB, et al. Towards the molecular localisation of the AZF locus: mapping of microdeletions in azoospermic men within 14 subintervals of interval 6 of the human Y chromosome. *Hum Mol Genet* 1992;1:29–33.
15. Mansour RT, Kamal A, Fahmy I, Tawab N, Serour G, Aboulghar M. Intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1997; 12(9): 1974-9.
16. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001; 22:226-39.
17. Ferras C, Fernandes S, Marques C.J et al. AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome. *Molecular Human Reproduction*. 2004; 10 :755-761.
18. Poongathai J, Gopenath T.S, Mononayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J*. 2009;50(4): 336.
19. Soydan H, Avcı A, Özgök Y, İmirzalioğlu N. Ciddi Oligozoospermik ve azoospermik idiopatik infertil erkeklerde Y kromozomu mikrolelesyonu analiz sonuçları. *Türk Üroloji Dergisi*. 2003;29 (4): 414-423.
20. Vicdan A, Vicdan K, Günalp G, Kence A, Akarsu C, Işık A.Z, Sözen E. Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *European Journal of Obstetrics&Gynecology and reproductive biology*. 2004;117: 49-54.
21. Seifer I.A, Lejeune H, Touraine R.L, Levy R. Y chromosome microdeletion screening in infertile men in France: a survey of French practice based on 88 IVF centres. *Human reproduction*. 2004;19:788-93.
22. Silber SJ, Alagappan R, Brown LG, Page DC. Y chromosome deletions in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1998;13:33327.
23. Van Golde R.J.T, Wetzels A.M.M, De Graaf R, Tuerlings J.H.A.M. Decreased fertilization rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in the azoospermia factor c region

PDF Eraser Free

- of the Y chromosome. *Hum Reprod* 2001;16:289–92.
24. Kleiman S.E, Yogev L, Gamsu R, Hauser R, Botchan A, Yavetz H. Three generation of Y chromosome microdeletion. *Journal of Andrology* 1999; 20: 394-398.
 25. Page DC, Silber S, Brown LG. Men with infertility caused by AZFc deletion can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum Reprod* 1999;14:1722–6.
 26. Kent-First MG, Kol S, Muallem A, Ofir R, Manor D, Blazer S, 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* 1996;2:943–50.
 27. Balaban B, Urman B, Işıklar A, Alataş C, Aksoy S, Mercan R, Mumcu A, Nuhoglu A. The effect of pronuclear morphology on embryo quality parameters and blastocyst transfer outcome. [Hum Reprod](#). 2001;16(11):2357-61.
 28. http://www.hakanyarali.com.tr/tup_bebek_asamaları/embriyo_kalitesi
 29. Palermo G.D, Schlegel P.N,Sills E.S, Veecks L, Zaninovic N. et al.Births after intracytoplasmic injection of sperm obtained by testicular extraction from men with nonmosaic Klinefelter’s syndrome. *The Eng.J. Medicine*. 1998;338:588-590.
 30. Tournaye H, Camus M, Liebaers I. et al.Testicular sperm recovery in nine 47,XXY Klinefelter patients. *Hum. Reprod*. 1996;11:1644-1649.
 31. Kobayashi S.E, Mizuno K, Hida A. et al. PCR analysis of the Y chromosome long arm in azoospermic patients:evidence for a second locus required for spermatogenesis. *Hum. Mol. Genet*. 1994; 3:1965-67.
 32. Reijo R, Lee T.Y., Salo P, Alagappan R, Brown L.G, et al.Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. 1995;10: 383-393.
 33. Mallidis C, McLachlan R, Baker H.W.G, Loveland K.A. et al. Y chromosome deletions and male infertility: The current status and unanswered questions. *Communication Media for Education*. 1998;205-213.
 34. Österlund C, Segerteen E, Arver S, Pousette A. Low number of Y

- chromosome deletions in infertile men at a Swedish andrology centre. 2000;23:225-229.
35. Martinez M.C, Bernabe M.J, Gomez E, Ballesteros A, Landeros J. et al. Screening for AZF deletion in large series of severely impaired spermatogenesis patients. *J Androl.* 2000;21:651-655.
 36. Bourrouillou G, Dastugue N, Colombies P. Chromosome studies in 952 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Hum. Genet.* 1985;71:366-67.
 37. Chiang H, Wei H, Chen Y. Genetic screening for patients with azoospermia and severe oligo-asthenospermia. *Int. J. Androl.* 2003;23:20-25.
 38. Vogt P.H. Human chromosome deletions in Yq11, AZF candidate genes and male infertility: history and update. *Mol. Hum. Reprod.*,1998;4:739-44.
 39. Pryor JL, Kent-First M, Muallem A, VanBergen AH, Nolten WE, Meisner L, Roberts KP. Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N Engl J Med* 1997; 336(8): 534-9.
 40. Lissitsina J, Mikelsaar R, Punab M. Cytogenetic analyses in infertile men. *Arch Androl.* 2006;52:91-5.
 41. Ceylan G.G, Ceylan C, Elyas H. Genetic anomalies in patients with severe oligozoospermia and azoospermia in eastern Turkey: a prospective study. *Genet. Mol. Research.* 2009;8(3): 915-22.
 42. Koşar et al. Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *Journal Assisted Reprod. Genet.* 2010; 27: 17-21.
 43. Maiburg M, Alizadeh B, Kastrop P, Lock M, Lans S, Giltay J. Does the genetic and familial background of males undertaking ICSI affect the outcome? *Journal Assisted Reprod. Genet.* 2009; 26:293-303.
 44. Krausz C, Forti G and McElreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int. J. Androl.* 2003; 26: 70-75.
 45. Van Assche E, Bodmelk M, Tourney H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Liebaers I. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod.* 1996; 4:1-24.
 46. Qureshi S.J, Ross A.R, Ma K et al.. Polymerase chain reaction screening for Y chromosome deletions encompassin a novel RNA-binding protein

PDF Eraser Free

gene. *Mol. Hum. Reprod* 1996; 2:775-779.

47. Stuppia L, Calabrese G, Franchi P.G, Peila R. Microdeletions in interval 6 of the Y chromosome detected by STS-PCR in 6 of 33 patients with idiopathic oligo- or azoospermia. *Cytogenet. Cell Genet.* 1996;72: 155-158.
48. Koh E et al, Y chromosome and new concept of azoospermia factor *Reprod.Med.* 2005; 4: 123-127.
49. Kremer J.A.M, Tuerlings J.H.A.M, Muelman E.J.H, Schoute F, Mariman E, et al. Microdeletion of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. *Hum. Reprod.* 1997; 12: 687-691.
50. Simoni M, Gromoll J, Dworniczak B et al. Screening for deletions on the Y chromosome involving the DAZ gene in azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil& Steril.* 1997; 67:542-547.
51. Kihaille P.E, Kisanga R.E, Aoki K, Kumasako Y, Misumi J, Utsunomiyo T. Embryo outcome in Y-chromosome microdeletion infertile males after ICSI. *Mol. Reproduction and Development.* 2004; 68:176-181.

EKLER

Testis Histopatoloji Sonuçları

1. E.K.	SCOS
2. Ş. Ş.	SCOS
3. S.A.Ş.	Hipospermatogenezis
4. S. K.	Maturasyon arrest
5. M. Ö.	TESE sperm yok.Testis histoloji sonucu yok.
6. Ö. K.	Şiddetli spermatogenik hipoplazi
7. T. U.	SCOS
8. S. E.	SCOS
9. A.E.	Maturasyon arrest
10. M.S.	Şiddetli spermatogenik hipoplazi(Mat. arrest)
11. M. T.	Hipospermatogenezis
12. M. K.	Hipospermatogenezis
13. C. K.	SCOS
14. Y. Y.	SCOS
15. F. G.	SCOS
16. M.G.	SCOS
17. A. K.	SCOS
18. M. S. A.	SCOS
19. Ç.Y.	SCOS
20. B. A.	SCOS
21. H.K.Y .	SCOS
22. İ. D.	SCOS
23. M. T.	Hipospermatogenezis
24. H. N.	Maturasyon arrest
25. Y. G.	Spermatik arrest
26. K. Y.	Hipospermatogenezis
27. Y. D.	SCOS
28. D. K.	Spermatik arrest

PDF Eraser Free

29. S.U.	SCOS
30. O.S.	SCOS
31. H. K.	SCOS
32. H. K.	SCOS
33. A. D.	SCOS
34. S. K.	SCOS
35. E. U.	SCOS
36. Y. K.	SCOS
37. Ü. Ö.	Hipospematogenezis
38. A. K.	Maturasyon arrest
39. A. P.	Maturasyon arrest
40. M.A.	Maturasyon arrest
41. C. A.	Maturasyon arrest
42. R. A.	Maturasyon arrest
43. Z. K.	Maturasyon arrest
44. S. S.	Hipospematogenezis
45. M.Ş.	Hipospematogenezis
46. Ü. A.	Hipospematogenezis
47. S. B.	Spermatik arrest
48. C. Ö.	Spermatik arrest
49. T. A.	Maturasyon arrest
50. Ö.D.	SCOS

GENETİK ANOMALİSİ OLAN VAKALARIN GEBELİK SONUÇLARI

1. İ.A.	45,XY,t(13;14)	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
2. Y.Ö.	46,XY,t(Y;12)	Klinik gebelik var.
3. M.G.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
4. E.E.	47,XXY	Klinik gebelik var. İkiz gebelik 21hf abort.
5. M.A.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
6. M.G.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
7. H.İ.A.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
8. H.H.A.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
9. M. Ç.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
10. M.A.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
11. M. T.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
12. M. K.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
13. A. A.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
14. M. H.	46,XY,14ps	Klinik gebelik var.
15. Y. D.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
16. M. Y.	47,XXY	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
17. İ. D.	AZFc delesyon	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.
18. Ö.B.	AZFc delesyon	Klinik,biyokimyasal gebelik yoktur.