

İNFERTİL ERKEKLERDE GENETİK DEĞERLENDİRME: Y KROMOZOM MİKRODELESYONLARI**GENETIC EVALUATION OF INFERTILE MALES: Y CHROMOSOME MICRODELETIONS**

ŞAMLI M.M.*, YILMAZ E.** , ŞAMLI H.***, İMİRALİOĞLU N.****

* Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, AFYON

** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ANKARA

*** Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, AFYON

**** Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Şiddetli erkek infertilitesi olgularının %30'unun genetik bozukluklardan temel aldığı düşünülmektedir. Ağır oligoastenoteratozoospermi ve azospermi en belirgin semptomdur. Y kromozom uzun kolu üzerinde Yq11 bölgesinde spermatogenezde rolü olan önemli genler bulunmaktadır. Bu bölgelerdeki mikrolelesyonlarla bir dizi spermatogenetik bozukluk ilişkilidir.

1999 yılı içerisinde şiddetli erkek infertilitesi nedeni ile kliniğimize başvuran 28 azospermik, 32 şiddetli oligozoospermik ve 9 sanal azospermik hasta değerlendirildi. İki-3 hafta ara ile 2 spermogram örnekleri, hormon profilleri, gerektiğinde transrektal ve skrotal ultrasonografi incelemesi, periferik kandan kromozom analizi uygulandı. Y kromozomu üzerindeki beş STS (sequence-tagged sites) bölgesi PCR ile analiz edildi.

Azospermik 28 hastanın 5'inde (%18), oligozoospermik olan 32 hastanın 7'sinde (%21), sanal azospermik 9 hastanın 2'sinde (%22) Y kromozom delesyonları saptandı. Y kromozom kalıtımının paternal olması sebebi ile yardımcı fertilizasyon sonrası benzer genetik bozuklukların erkek çocukta da görülmesini olası kılmaktadır. Ciddi spermatogenik bozukluğu olan erkeklerde yardımcı üreme yöntemi öncesi Y kromozom mikrolelesyonları araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Y kromozom, AZF, erkek infertilitesi

ABSTRACT

In about 30% of severe male infertility cases genetic disorders are suspected to be the basis. Severe oligoasthenoteratozoospermia and azospermia is the predominant symptom. Key regions like Yq11 on long arm of the Y chromosome contain important genes responsible for spermatogenesis. A number of spermatogenic defects have been associated with microdeletions of these regions.

We evaluated 28 azospermic patients, 32 severe oligozoospermic patients and 9 sanal azospermic patients applied to our clinic for severe male infertility in 1999. Two spermogram analysis 2-3 weeks apart, hormonal profiles, when necessary transrectal and scrotal ultrasound investigation, chromosomal analysis from peripheral blood were performed. Five STS (sequence-tagged sites) region on chromosome Y were analysed by PCR.

We detected Y chromosome deletions in 5 out of 28 (%18) azospermic patients, in 7 out of 32 (%21) oligozoospermic patients and in 2 out of 9 (%22) virtual azospermic patients. Since Y chromosome inheritance is of paternal origin, men with somatic Y chromosome deletions are likely to have male offspring with similar genetic defects after assisted fertilization. Y chromosome microdeletions should be investigated in men before assisted reproduction who suffer severe spermatogenic defects.

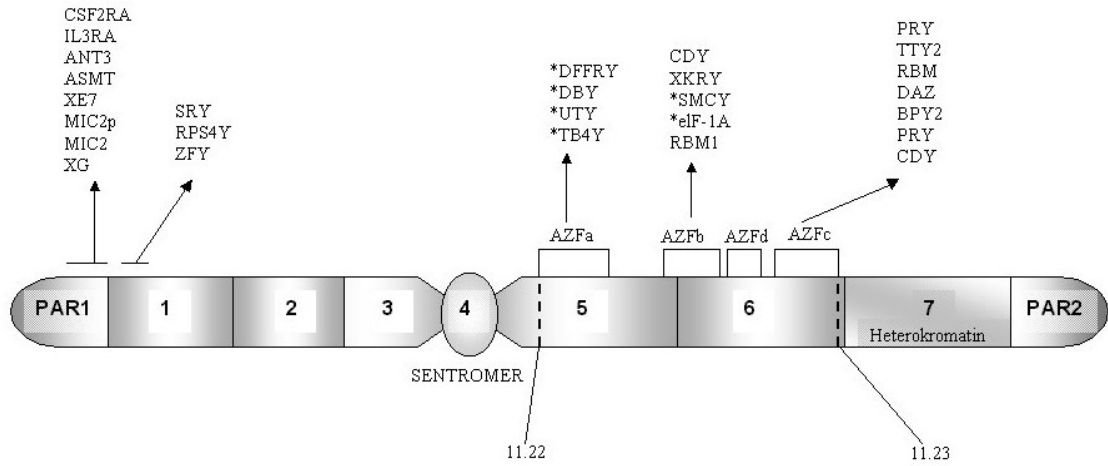
Key Words: Y chromosome, AZF, male infertility

GİRİŞ

Gebelik isteyen çiftlerin yaklaşık olarak % 15'inde infertilite problemi bulunmaktadır¹. Bu gruptaki erkeklerin klinik tanımlamasında varikosel, enfeksiyon, kanal atrezisi/obstrüksiyon, kriptorşidizm gibi sebepler bulunmakta, ancak bu faktörlerden herhangi birisi tespit edilemediğinde idiyopatik olarak adlandırılmaktadır². Değerlendirilen çoğu erkek infertilite gruplarında %20-25

civarlarındaki oranlarda idiyopatik tanımlaması mevcuttur³.

ICSI gibi yöntemlerin güncellik kazanması ile daha belirginleşen genetik faktörlerin araştırılması gündeme gelmiştir. Periferik kandan izole edilen hücrelerden yapılan kromozom analizleri ve PCR (Polymerase Chain-Reaction) ile izole edilen DNA'nın Y kromozom açısından değer-



Resim 1. Y kromozom Şematik Yapı (*X –homolog genler: PAR1 ve PAR2: Pseudootosomal Bölgeleri göstermektedir. Karyogram incelemesinde GTG bandlamada AZF bölgesi Y11.22-Y11.23 bandları arasında yer almaktadır. Resimde Y kromozomu üzerindeki genlerin bulunukları yerler görülmektedir.)

lendirilmesi idiyopatik diye adlandırılan gruptaki infertil erkeklerin bir kısmına tanı koyma şansını vermektedir. Ayrıca bu şekilde genetik defekt tespit edilen erkek hastalarla birlikte, ICSI yöntemi ile elde edilen erkek çocukların da genetik yapısını tanımak ve değerlendirmek önem kazanmaktadır.

İlk kez Trepolo ve Zufferdi 1976'da⁴ 1170 infertil erkek hastanın karyotipik araştırmasında, 6 hastada Y kromozomunun uzun kolunun kayıp olduğunu saptadılar ve bu bölgenin erkek infertilitesinde önemli olduğunu bildirdiler.

Ağır oligozoospermik erkeklerdeki spermelerde tespit edilen delesyon ile periferik kandaki lökositlerdeki delesyonlar aynı bulunmuştur⁶. Ancak kan dokusu geç differansiye olan mesoderm olması dolayısı ile ektoderm ve endoderme ait doku tiplerinin doğru ve tümünü içeren bilgiyi kapsamayabilir ki buna germ hücreleri de dahildir.

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 (Resim 1). İnfertilite ile ilgili mikrodelesyonlar en az 4 bölgede oluşmaktadır; AZFa (JOLAR), AZFb, AZFc (KLARD) ve AZFd (7,14). Yp üzerindeki önemli bir gen olan SRY geni tek başına normal spermatogenezi sağlamakta yetersizdir⁸.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 1999-Haziran 1999 tarihleri arasında kliniğimize başvuran 28 azoospermik, 32 oligozoospermik ve 9 sanal azoospermik hastaya fizik muayene, 2-3 hafta ara ile 2 spermogram analizi, hormon profilleri (FSH, LH, PRL, Total testosteron), gerektiğinde transrektal ve skrotal ultrasonografi incelemesi, periferik kandan kromozom analizi uygulandı. Testis hacimleri kaliper ile boyutları ölçülerek veya gerektiğinde yapılan skrotal USG ile ölçüldü. Y kromozomu üzerindeki beş STS marker bölgesi PCR ile analiz edildi.

Spermogram değerlendirme:

Hastalar 3-5 günlük cinsel perhiz süresi sonrası laboratuvar şartlarında mastürbasyon ile örneklerini verdiler. Makler sayma kamerası (Sefi-Medical Instruments Ltd., Haifa, Israel) kullanılarak WHO kriterlerine göre sayı ve motiliteleri değerlendirildi. Morfolojik değerlendirmeleri Kruger strict kriterlerine göre yapıldı. Hastalar 2-3 hafta ara ile ikinci örneklerini de analiz için verdiler.

Azoospermi saptanmış ise 1800 g, 10 dk santrifüj edilerek pellet değerlendirilmesi her 2 örnekte de gerçekleştirilerek gerçek azoospermimin bulunduğu gösterildi. Eğer santrifüj sonrası sperm hücresi saptanmışsa sanal azoospermia olarak değerlendirildi.

Testis biyopsisi

Testis biyopsisi gerçek azoospermi saptanan hastalara bilateral kord lokal anestezisi uygulanarak, x40 büyütme ile operasyon mikroskobu altında mikroskobik doku disseksiyonu uygulanarak gerçekleştirildi. Elde edilen testis doku örnekleri operasyon esnasında sperm varlığı açısından değerlendirildi, aynı bölgeden ikinci bir örnek histopatolojik açıdan değerlendirildi.

PCR tekniği

Standart metodlar ile periferik kan lökositlerinden izole edilen DNA, Y kromozomu üzerinde bulunan AZFa, AZFc, RBMI, sY153, Y6HP52 bölgelerindeki mikrolelesyonları analiz etmek için kullanıldı. Bu analiz için AZFa, Y6HP52 ve AZFc, RBMI, sY153 markerları ile hazırlanmış multiplex PCR (MJ Research, USA) tekniği kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin baz dizileri Tablo 1’de verilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu için; AZFa, AZFc, RBMI, sY153, Y6HP52 bölgelerine ait primerlerden 2 pmol, 1xTaq DNA polimeraz buffer (55mM Tris HCL pH 9.0, 20 mM (NH₄) SO₂, %0.1 triton X100), 0.2 mM dNTPs, 2.5 ünite Taq DNA Polimeraz (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA) ve 200-500 ngr DNA örneği ile 50 ul’lik PCR karışımı hazırlandı. PCR reaksiyonu 94C’de 2 dk denatürasyondan sonra 92 C’de 1 dk, 55 C’de 1 dk, 72 C’de 1 dk olacak şekilde 35 döngü halinde gerçekleştirildi. Amplifiye olan DNA örnekleri %4’lük agaroz jelde yürütüldükten sonra EtBr ile boyanarak UV altında incelendi.

Primer	Baz dizilişi
AZFa	F 5’—AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT—3’ R 5’—GCCTACTACCTGGAGGCTTC—3’
AZFc	F 5’—GGGTGTTACCAGAAGGCAAAA—3’ R 5’—GAACCGTATCTACAAAGCAGC—3’
RBMI	F 5’—ATGCACTTCAGAGATACGG—3’ R 5’—CCTCTCTCCACAAAACCAACA—3’
sY153	F 5’—GCATCCTCATTTTATGTCCA—3’ R 5’—CAACCCAAAAGCACTGAGTA—3’
Y6HP52	F 5’—ATGTCAGGGTTTCCTTTGCC—3’ R 5’—AGGAAGTGGCAGGATTAGCC—3’

Tablo 1. PCR analizinde kullanılan primerlerin baz dizilişleri

Kromozom analizi

0,5 cc heparin bulunan enjektöre 4,5 cc venöz kan alındı. Periferik kan lökositlerinden konvansiyonel kültür metodu uygulanarak metafaz plakları elde edildi. Giemsa bandlama yöntemi ile boyanan preparatlar x1000 büyütme mikros-

kop altında en az 20 metafaz plağı analiz edilerek değerlendirildi.

BULGULAR

Tablo 2’de çalışma grubuna alınan hastalara ait genel parametreler görülmektedir. Azoospermik 28 hastaya ve oligozoospermik 41 hastaya ait yaş ortalamaları sırası ile 33,8±4,8 ve 33,4±4,8 bulunmuştur (p=0,7). İnfertilite süreleri, ortalama testis hacimleri ve FSH düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır.

	Azoospermia n=28	Oligozoospermik n=41	p*
Yaş (yıl)	33,8±4,8	33,4±4,8	0,7
İnfertilite Süresi (yıl)	10±5	8,2±6,4	0,2
Ort. testis hacmi (mL)	8,1±3,9	11±3,3	0,1
FSH (mIU/mL)	14,7±6,9	13,3±10	0,5

Tablo 2. Hastalara Ait Genel Parametreler (*Student-t test)

Tablo 3’de PCR inceleme sonuçları ve periferik kan lökositlerinden elde edilen kromozomal anomali sonuçları görülmektedir. Azoospermik grupta %17,8 Y delesyonu tespit edilmiştir. Bu grupta mozaik Klinefelter olan 1 hasta tespit edilmiştir. Bu hastada Y delesyonu tespit edilmiştir. Oligozoospermik grupta Y delesyon oranı %21,8 bulunmuştur. Bu grupta kromozomal anomali saptanmamıştır. Sanal azoospermik olan 9 hastanın 2’sinde (%22,2) Y delesyonu tespit edilmiştir. Bu grupta kromozomal anomali saptanan 2 hastadan biri klasik Klinefelter olarak rapor edilmiş, diğer hastada normal bir varyasyon olarak kabul edilen 9. kromozom inversiyonu tespit edilmiştir.

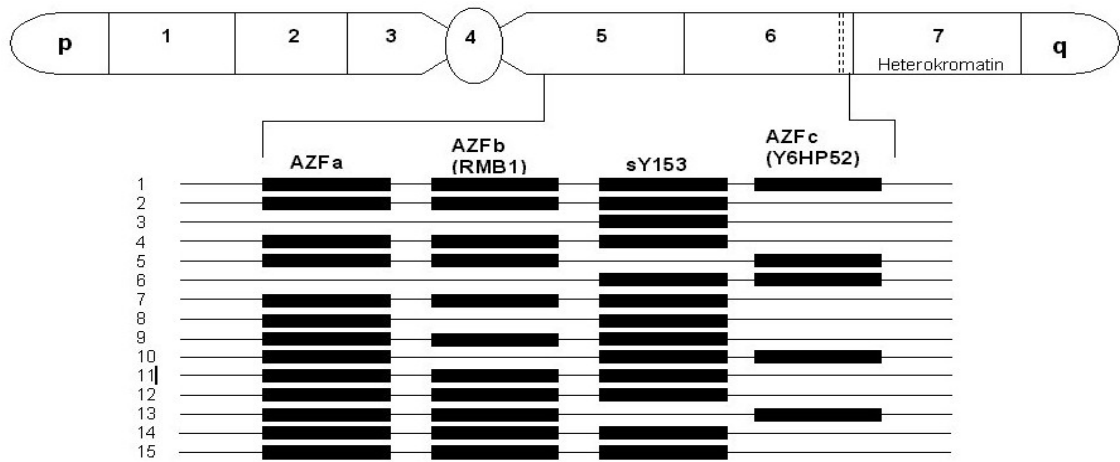
	Y delesyonu	Normal karyogram	Patolojik karyogram
Azoospermia (n=28)	5 (%17,8)	27 (%96)	47, xxy/46, xy
Oligozoospermia (n=32)	7 (%21,8)	32 (%100)	-
Sanal azoospermia (n=9)	2 (%22,2)	7 (%77)	47, xxy 46, xy, inv(9)

Tablo 3. PCR ve Karyogram İncelemesi

Tablo 4’de azoospermik ve oligozoospermik hastaların Y mikrolelesyon tespit edilip edilmemesine göre çeşitli parametreler için istatistiksel analiz uygulanmıştır. Bu parametrelerde Y kromozom mikrolelesyonunun olup olmaması istatistiksel bir farklılık yaratmamıştır.

Ortalama±S.D.		Yaş	Semen hacmi (ml)	Sperm sayısı x10 ⁶ /ml	Ortalama testis hacmi (cc)	FSH mIU/mL	Total testosteron nmol/L
Oligozoospermia	Delesyon (+) n=9	36,2±6,2	4,4±2,1	2,194±5,598	11,2±3,2	15,4±6,8	9,4±2,7
	Delesyon (-) n=32	32,7±4,2	3,5±1,5	2,182±3,45	10,9±3,3	12,9±6,8	6,6±4,2
		*p=0,09	*p=0,15	*p=0,24	*p=0,72	*p=0,21	*p=0,24
Azoospermia	Delesyon (+) n=5	34±4,3	3,1±0,7	—	13±2,7	12,3±6,3	5,1±3,3
	Delesyon (-) n=23	33,8±5	3,5±1,3	—	10,7±4,1	15,9±7	4,3±3,5
		*p=0,97	*p=0,28	—	*p=0,26	*p=0,35	*p=0,5

Tablo 4. Oligozoospermik ve azoospermik gruplarda delesyon varlığına veya yokluğuna göre analiz sonuçları (*Mann-Whitney U testi).



Resim 2. PCR sonuçları (1: Normal, 2-6: Azoospermik grup, 7-13 Oligospermik grup, 14-15: Virtual azoospermik grup; Siyah renkli band PCR ile aranan DNA parçasının o hastada tespit edildiğini, ince düz çizgi ise bu bölgenin delesyone olduğunu ifade etmektedir.)

PCR tekniği ile delesyon saptanan tüm hastalara ait sonuçlar şematik olarak Resim 2’de görülmektedir. 1 no’lu dizi kontrol olarak alınan normal bir erkeğe ait sonuncu örneklemeğidir. 2-6 no’lu diziler azoospermik hastalarda elde edilen PCR sonuçlarını, 7-13 no’lu diziler oligozoospermik hastaların sonuçlarını ve 14-15 no’lu diziler ise sanal azoospermik hastaları göstermektedir. AZFa azoospermiklerde %25 oranında görülürken, oligozoospermiklerde hiç tespit edilmemiştir. AZFb azoospermiklerde ve oligozoospermiklerde %25 olarak aynı oranda bulunmuştur. AZFc ise azoospermiklerde %37 oranında iken oligozoospermiklerde %87 oranındadır.

Yirmi sekiz azoospermik, 32 şiddetli oligozoospermik ve 9 sanal azoospermik hastadan Y kromozom mikrolelesyonu saptanan hastaların analiz sonuçları Tablo 5, 6 ve 7’de verilmiştir.

Tablo 5’de Y delesyonu tespit edilmiş olan 5 azoospermik hastanın klinik parametreleri görülmektedir. Bu hastaların hiç birinde periferik kandan yapılan kromozom analizlerinde anomaliye rastlanmamıştır. Testis histopatolojilerinde germ-cell aplasia ve maturasyon arrest patolojisi ağırlıktadır. FSH düzeyleri genellikle normal sınırlar içinde bulunmakta, sadece 4 numaralı hastada FSH düzeyi normalin üstünde tespit edilmiştir. Y kromozom mikrolelesyonu tespit edilen 5 hastaya ait histopatoloji sonuçları Tablo 5’-

de görülmektedir. Genellikle germ-cell aplasia ve maturasyon arresti tespit edilmekle birlikte 2 no'lu hastada %2 ve %6 hipospermatogenez alanları tespit edilmiştir. Ancak bu hastada wet preparasyonda kriyoprezervasyon için sperm hücresi tespit edilememiştir.

Resim 3'de azoospermik hastalardaki PCR sonuçları ile histopatolojik değerlendirmeleri görülmektedir. En sık olarak tespit edilen delesyon AZFc'dir. Testis histopatolojisi ile delesyone kısım arasında belirgin bir bağlantı tespit edilememiştir. Ancak AZFa, AZFb ve/veya AZFc delesyonları germ-cell aplasia ve maturasyon arrest patolojileri ile birlikte görülmektedir. AZFa+b delesyonu veya AZFa+b+c delesyonu benzer histopatolojiler gösterebilmektedir.

AZFc delesyonu olan bir hastada (No=4) sadece germ-cell aplasia saptanırken bir diğerinde (No=2) hipospermatogenetik alanlar bulunabilmiştir.

Tablo 6'da Y delesyonu tespit edilmiş olan 7 oligozoospermik hastanın klinik parametreleri görülmektedir. Oligozoospermik olan tüm hasta grubunda ortalama sperm sayısı=2.79±4.2 (600/mL-17 milyon/mL) ve total motilite=27.12±19 (%0-%58) bulunmuştur. FSH düzeyi 1 no'lu hastada testiküler yetmezliğin bir sonucu olarak normalin üzerinde tespit edilmesine rağmen çok düşük konsantrasyonda da olsa sperm hücresi tespit edilmiştir. Y delesyonu saptanan oligozoospermik grupta kromozomal anomali saptanmamıştır.

No	Yaş	Testis vol. (ml) (R/L)	FSH	LH	TT	Karyotip	Histopatoloji
2	33	10/10	15,1	1,6	25,4	46,xy	R(1-3)=%2Hipo., %98 M.arrest L(1-3)=%6Hipo., %94 M.arrest
3	31	10/10	9,6	2,2	30,1	46,xy	R ve L(1-6)=GCA+M.arrest
4	39	10/10	22,9	7,8	9,7	46,xy	R ve L(1-6)=GCA
5	34	5/5	2,7	5,3	19,7	46,xy	R ve L(1-4)= GCA+M.arrest
6	38	15/15	15,3	4,1	10,6	46,xy	R ve L(1-3)= GCA+M.arrest

Tablo 5. Y Delesyonu Olan Azoospermik Hastaların Klinik Bilgisi (R: sağ, L: sol, Hipo.: hipospermatogenez, GCA: Germ-cell aplasia, M.arrest: Maturasyon arresti (No'lar Resim 2'deki sıralamayı ifade etmektedir.))



Resim 3. AZF delesyonu bulunan azoospermik hastaların testis histopatolojileri (Siyah renkli band PCR ile aranan DNA parçasının o hastada tespit edildiğini, ince düz çizgi ise bu bölgenin delesyone olduğunu ifade etmektedir.

No	Yaş	Testis vol. Sağ/Sol (ml)	FSH	LH	TT	Karyotip	Sperm konsantrasyonu
7	37	8/8	26	5,2	22,5	46,xy	2ml, 600/ml
8	26	13/13	11	11	23,6	46,xy	4,5ml, 4.000/ml
9	31	8/8	12,4	12,4	18,6	46,xy	5ml, 5.600/ml
10	46	15/15	9,3	9,3	23,1	46,xy	3ml, 40.000/ml
11	43	10/10	5,7	5,7	29,7	46,xy	9ml, 500.000/ml
12	31	7/10	11,1	11,1	9,2	46,xy	5,4ml, 2.2milyon/ml
13	39	15/15	12,3	12,3	30,4	46,xy	4ml, 17milyon/ml

Tablo 6. Y Delesyonu Olan Oligozoospermiak Hastaların Klinik Bilgisi (No'lar Resim 2'deki sıralamayı ifade etmektedir.)

No	Yaş	Testis vol. (ml)	FSH	LH	TT	Karyotip	Sperm konsantrasyonu
14	36	8/8	19	6,9	15,2	46,xy	3ml, 7 adet (+4) motilite, 2adet (+3) motilite, 18 adet (+1) motilite
15	37	15/15	10,2	5,9	14,9	46,xy	2,2ml, 4 adet (+2) motilite, 4 adet (+1) motilite

Tablo 7. Y Delesyonu Olan Sanal Azoospermik Hastaların Klinik Bilgisi (No'lar Resim 2'deki sıralamayı ifade etmektedir.)

Bazal değerlendirmede azospermi saptanan, ancak 1800g 10 dk santrifüj sonrası pellet değerlendirmesinde sperm hücresi saptanan 9 hastadan 2'sinde Y kromozom mikrolelesyonu saptanmıştır. Bu 2 hastaya ait klinik parametreler Tablo 7'de yer almaktadır. Bu hastalara testis biyopsisi uygulanmamıştır.

TARTIŞMA

Y kromozom mikrolelesyonları spermatogenetik yetmezliğin en sık sebeplerinden biridir¹⁰. İdiyopatik azospermide %15-20, idiyopatik oligozoospermide %7-10 oranında rastlanmaktadır. Çalışmamızda azospermik grupta % 17,8 Y mikrolelesyonu, oligozoospermik grupta ise Y mikrolelesyon oranı %21,8 bulunmuştur. Literatürde rastlanan oranlardaki farklılıklar olasılıkla çalışılan hasta grubunun azospermik, oligozoospermik, infertil normozoospermik gibi değişken özelliklerine bağlıdır. Testis hacmi, FSH ve testosteron düzeyi, yaş, semen hacmi gibi klinik parametrelere bakarak testis yetmezliği olan hangi erkekte delesyonun ortaya çıktığını söylemek mümkün değildir¹¹. Sonuç olarak Y delesyon insidensi çalışılan grupların heterojenitesi, topluluklar arasındaki varyasyon nedeni ile farklı oranlarda tespit edilmektedir. Çalışmamızda Y kromozom mikrolelesyonunun varlığı ile testis hacmi, FSH ve testosteron düzeyi, yaş, semen hacmi gibi parametreler arasında istatistiksel bağlantı tespit edilmemiştir.

Genotip/fenotip ilişkisini kurmak tamamı ile mümkün olmasa da bir dizi çalışma genel eğilimi desteklemektedir¹². Vogt, Krausz, McElreavey ve Quereschi Y kromozom mikrolelesyonlarının birbiri ile çakışmayan belirli delesyon şekilleri izlediğini ve her bir bölgenin de belirli histopatolojik yapı ile uyumlu olduğunu ileri sürdüler^{7,12,15}. Krausz, McElreavey ayrıca AZFc'nin hipospermatogenez veya tip II SCOS ile ilişkili görüldüğünü, bu nedenle bu delesyonun tespit edildiği hastalara TESE/ICSI yerine cryo-TESE önerilmesini uygun olduğunu ileri sürdüler.

Kent-First 1996'da⁶ AZFb'nin matürasyon arresti, AZFb ve AZFa ve/veya AZFc delesyonlarında Sertoli cell-only sendromu/matürasyon arresti histopatolojilerinin sıklıkla izlendiğini bildirdi. Girardi 1997'de¹¹ ve Brandel 1998'de¹³ AZFb'nin spermatositik arrest ile ilişkili olduğu-

nu rapor ettiler. Pryor ise 1997'de¹⁶ AZFb delesyonu olan bir oligozoospermik infertil bir erkek hasta bildirmiştir. Ancak Kent-First çeşitli AZFb delesyonları ile uyum gösteren fenotipik özellikler tespit etmediğini ve parsiyel AZFb delesyonlarında daha heterojenik bir fenotipik özellik olarak oligozoospermia görüldüğünü bildirmektedir¹⁴. Çalışmamızda azospermiklerde en sık AZFc delesyonu tespit etmekle birlikte, AZFa+AZFb+AZFc ve AZFa+AZFb delesyonları da saptandı. AZFa azospermiklerde %25 oranında görülürken, oligozoospermiklerde hiç tespit edilmemiştir. Histopatolojilerine baktığımızda %80 oranlarında maturasyon arresti ve germ-cell aplazisi görülmektedir. Oligozoospermik grupta %57 oranında AZFc delesyonu saptanmakla birlikte, AZFb, AZFb+AZFc delesyonları olan hastalar da tespit edilmiştir. Tek başına AZFc delesyonu tespit edilen hastalarda sperm konsantrasyonları sanal azospermi-2.2 milyon/ml arasında değişim göstermektedir. AZFb delesyonu olan bir hastada ise 40.000/ml sperm konsantrasyonu olması komplet olmayan AZFb bölge delesyonu olabileceğini düşündürmektedir. Sadece AZFc delesyonu olan bir hastanın histopatolojisinde hipospermatogenez bulunmasına rağmen wet preparasyonda sperm elde edilememiştir. Yine AZFc delesyonu olan bir başka hastada sadece germ-cell aplasia saptanmıştır. Sperm parametreleri değerlendirildiğinde ml'deki sperm sayısı 600/ml-17 milyon/ml arasındaki değerlerde delesyon saptanabildiği görülmektedir.

Foresta 1999'da⁹ 40 unilateral kriptorşidizm olan hastanın 11'inde (%27.5) Yq delesyonları tespit etmiştir. İdiyopatik olan grup ile kriptorşidizm grubu arasında Yq delesyonu açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çalışmamızda kriptorşidizm/orşiopeksi öyküsü bulunan oligozoospermik bir hastada AZFc delesyonu tespit edilmiştir.

Endokrin sisteme ait değerler arasında, delesyonu olan ve olmayan grupta istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

TESE uygulanacak hastalarda delesyonlar sperm elde edilmesinde prognostik faktör olarak ileri sürülmektedir. Brandel ve arkadaşları AZFb delesyonunun bulunmasını TESE için kötü prognostik bir bulgu olduğunu ileri sürdüler¹³. AZFc delesyonları ve parsiyel AZFb delesyonu olan hastaların %50'sinden sperm elde edilebilirken,

komplet AZFb delesyonunda matür spermatozoa bulunma şansı neredeyse yok kabul edilmektedir. AZFc bölgesini içeren veya bu bölgeye uzanan delesyonlarda (AZFb+AZFc ve AZFa+AZFb+AZFc) testiküler spermatozoanın total yokluğu ile ilişkili bulunmuştur¹⁷.

Günümüzde PCR teknolojisi, ICSI/IVF teknikleri ile elde edilen erkek çocukların Y kromozom durumlarının bilinmesi, bu çocuklardaki genetik defekt açısından ileride gereksiz medikal veya cerrahi tedavilerin yapılmasını önleme açısından önemli bir aşama kaydetmiştir. Genetik ve erkek infertilitesi konusunda özellikle son 5 yılda yapılan çalışmalar oldukça ilerleme kaydetmiş olmasına rağmen hala cevaplanamamış bir çok soru mevcuttur. Özellikle fenotip ile genotip arasındaki korelasyonun net bir şekilde ortaya konulması, hasta değerlendirilmesi ve testis histopatolojisi için prediktif sonuçlar vermesi yönünden Y kromozom mikrolelesyonları araştırılmaya değer konulardır. Sadece delesyonun varlığı veya yokluğu konunun aslını oluşturmamaktadır. Y kromozom genlerinin kodladığı proteinlerin biyolojik fonksiyonları hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu faktörlerin biyolojik olaylardaki rolleri daha iyi öğrenildiğinde ileride daha doğru ve bilgiye dayalı tedavilerin uygulanması mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- **Mosher WD:** Reproductive impairments in the United States, 1965-1982. *Demography* 22, 415-430, 1985
- 2- **Greenberg SH, Lipsultz LI, Wein AJ:** Experience with 425 subfertile male patients. *J Urol*; 119(4): 507-10, 1978
- 3- **Greenberg S, Lipshultz L, Wein A:** Experience with 425 subfertile male patients. *J Urol* 119:507, 1978
- 4- **Tiepolo L, Zuffardi O:** Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome. *Hum Genet* 34: 119-24, 1976
- 5- **Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P et al:** Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *Lancet* 347, 1290-1293, 1996.
- 6- **Kent-First M, Kol A, Muallem R:** Infertility in intracytoplasmic sperm injection-derived sons. *Lancet*, 348, 332, Aug 1996
- 7- **Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S:** Human Y chromosome: Azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*, 5: 993-43, 1996
- 8- **Bogan JS, Page DC:** Ovary? Testis? A mammalian dilemma. *Cell*. 25; 76(4): 603-7, 1994
- 9- **Foresta C, Mora E, Garolla A et al:** Y chromosome microdeletions in cryptorchidism and idiopathic infertility. *J Clin Endoc Metab.*, 84: 10, 3660-3665, 1999.
- 10- **Mc Elreavey K, Krausz C, Bishop CE:** The human Y chromosome and male infertility. In McElreavey K (eds.) *The Genetic Basis of Male Infertility*. Springer, Heidelberg, Germany, 211, 1999.
- 11- **Girardi SK, Mielnic A, Schlegel PN:** Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. *Hum Rep* 12, 1635-41, 1997
- 12- **Krausz C, McElreavey K:** Y chromosome and male infertility. *Frontiers in Bioscience* 4, e1-8, Jan 15, 1999
- 13- **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* 13, 2812-2815, 1998
- 14- **Kent-First M, Muallem A, Shultz J et al:** Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Molec Reprod and Develop.* 53: 1, 27-41, 1999
- 15- **Qureshi SJ, Ross AR, Ma K, Cooke HJ, Intyre MA, Chandley AC, Hargreave TB:** Polymerase chain reaction screening for Y chromosome microdeletions: A first step towards the diagnosis of genetically-determined spermatogenic failure in men. *Mol Hum Reprod* 2: 10 775-779, Oct 1996
- 16- **Pryor JL, Kent-First M, Muallem A et al:** Prospective analysis of Y chromosome microdeletions in 200 consecutive male infertility patients. *N Engl J Med* 336: 534-539, 1997
- 17- **Silber SJ, Alagappan R, Brown LG, et al:** Y chromosome deletions in azoospermic and severe oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 13, 3332-3337, 1998.