



CİHAN DURMUŞ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DIYARBAKIR-2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AZOSPERMİ VE OLİGOSPERMİ HASTALARDA
KROMOZOM ANALİZİ VE Y-MİKRODELESYONU
SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Cihan DURMUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ

DİYARBAKIR – 2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AZOSPERMİ VE OLİGOSPERMİ HASTALARDA
KROMOZOM ANALİZİ VE Y-MİKRODELESYONU
SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Cihan DURMUŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ

DİYARBAKIR – 2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Cihan DURMUŞ'ın hazırladığı “**Azospermi Ve Oligospermi Hastalarda Kromozom Analizi Ve Y-Mikrodelesyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 26/06/2024

Danışmanı: Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye: Prof. Dr. Erdal TUNÇ Mardin Artuklu üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Diclehan ORAL Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İlyas YÜCEL Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../2024 tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

.../.../2024

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

../../2024

CİHAN DURMUŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ihtiyaç duyduğum her an bilgi, birikim, tecrübe ve görüşlerinden faydalandığım, tezimin her aşamasında katkılarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Eğitimim süresince her konuda desteğini esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mahmut Balkan'a, Güler yüzü ve samimiyetini bizden asla esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Diclehan Oral'a da ayrıca teşekkür ederim. Kampüs içinde ve dışında her daim ilgi ve alakalarını gösteren sevgili Dr. Öğr. Üyesi İlyas YÜCEL ve Arş. Gör. Mahir BİNİCİ'ye, dönem arkadaşlarım sevgili Davut COŞKUN'a, Mert İPEKÇİ'ye ve Gülbahar GÜZEL'e teşekkürlerimi sunarım. Tüm Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik laboratuvarı çalışan ailesine de destekleri ve yardımları için teşekkür ederim.

Tüm eğitim sürecim boyunca gösterdiği sabır, destek ve sonsuz sevgisi için canım eşim Zergül Adar DURMUŞ'a, varlıklarıyla hayatımıza neşe ve renk katan sevgili oğullarım Rodin DURMUŞ ve Daren DURMUŞ'a sonsuz minnettarım.

CİHAN DURMUŞ

Diyarbakır-2024

İÇİNDEKİLER

BEYAN	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER.....	III
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
1. ÖZETLER	1
1.1. Türkçe Özet	1
1.2. Abstract.....	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Erkek Üreme Sistemi	7
3.1.1. Erkek Üreme Organları.....	8
3.1.1.1. Testis.....	8
3.1.1.2. Epididim	9
3.1.1.3. Ejakülât	10
3.1.1.4. Ductus Deferens(Vas Deferens).....	10
3.1.1.5. Prostat	11
3.1.1.6. Seminal Vezikül	11
3.1.1.7. Penis ve Skrotum.....	12
3.1.2. Spermatogenez	12
3.2. Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri.....	15
3.2.1. Kromozomal Bozukluklar	16
3.2.2. Gen Düzeyinde Mutasyonlar	17

3.3. Azospermi Ve Oligospermi	23
3.4. Kromozomal polimorfizimler(heterokromatin varyantlar) ve infertilite	25
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	26
4.1. Çalışma Popülasyonu	26
4.2. Sitogenetik İnceleme İçin Kullanılan Solüsyonlar.....	27
4.3. Sitogenetik inceleme için Periferik Kanda Kullanılan Kültür Ortamı İçeriği.....	27
4.4. Sitogenetik İnceleme İçin Kullanılan Aletler	28
4.5. Kromozom eldesi boya ve bant işlemi	28
4.6. Preperatların değerlendirilmesi ve karyotip işlemleri	34
4.7. Y-Mikrodelesyon Analizi İçin DNA İzolasyonu	32
4.8. RT-PCR İle Y-mikrodelesyon analizi	34
5. BULGULAR	38
5.1. Sitogenetik ve moleküler bulgular	38
5.2. Karyotip bulguları	39
5.3. İnfertil vakaların yaş dağılımları.....	42
5.4. Vakaların hormonal bulguları.....	43
5.5. Y-mikrodelesyon bulguları.....	43
5.6. Vakalara ait bazı karyotipler.....	46
6. TARTIŞMA	48
7. SONUÇ.....	51
8. KAYNAKLAR.....	53
9. EKLER.....	61
9.1. ÖZGEÇMİŞ	61
9.2. ETİK KURUL RAPORU	62
9.3. ORJİNALLİK RAPORU	63

KISALTMALAR VE SİMGELER

USG	: Ultrasonografi
WHO	: World Health Organization
RT-PCR	: Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AZF	: Azospermi Faktörü
ICSI	: İntra-Cytoplasmic Sperm İnjection
TESE	: Testiküler Sperm Ekstraksiyonu
SRY	: Seks Belirleyici Gen
MIS	: Mülleryan İnhibe Edici Madde
CR	: Verteks İle Koksiks Arası Vertikal Mesafe
LH	: Lüteinizan Hormon
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salgılayan Hormon
MGD	: Miks Gonadal Disgenezi
SCOS	: Sertoli Hücreleri Tek Başına Sendromu
KS	: Klinefelter Sendromu
DAZ	: Deleted İn Azoospermia
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
CBAVD	: Vas Deferens'in Konjenital İki Taraflı Yokluğu
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ZFY	: Zinc Finger Gene On The Y Chromosome

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Erkek üreme sisteminin bir şeması	9
Şekil 2. Vas deferens ve erkek üreme sisteminin diğer önemli bileşenlerini gösteren 3 boyutlu tıbbi illüstrasyon(27)	11
Şekil 3. Hipotalamik hipofiz ekseninin ve hormonal geri bildirim sisteminin şematik gösterimi.....	13
Şekil 4. Seminifer tübüldeki germinal epitelin kesiti	15
Şekil 5. İnsan Y kromozomunun yapısı.....	20
Şekil 6. AZF mikrodelesyonlarının semen fenotipi ve TESE sonuçları.....	22
Şekil 7. Besiyeri için hazırlanan falcon tüpler ve kan örneği bulunan heparinli enjektörler.....	29
Şekil 8. Kolsemid damlatıldıktan sonra 45 dk etüvde 37c bekledikten sonra 10 dk santrifüj edildikten sonraki hali	30
Şekil 9. Süpernatant kısmı atılıp pelet bırakılıyor	30
Şekil 10. 20 damla hipotonik eklenip vortexleniyor.....	31
Şekil 11. RT-PCR için kullanılan gereçler.....	34
Şekil 12. İnternal kontrol piklerinin görüntüsü.	36
Şekil 13. AZF bölgesi, pik var ilgili bölgede delesyon yok (fam boyası).	36
Şekil 14. AZF bölgesi, pik yok ilgili bölgede delesyon var (fam boyası)	36
Şekil 15. Vakaların yaş dağılımı	42
Şekil 16. Denova mutasyon sonucu y-mikrodelesyon pozitif vaka	45
Şekil 17. mos47,XXY ,9qh+[26] /46,XX,9qh+ [2]/ 46,XY,9qh+[1](Mozaik Klinefelter sendromu)	46
Şekil 18. mos45,X ,9qh+[26]/46,XY ,9qh+[6]	47
Şekil 19. 45,XY,t(13;14).....	47

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. İnsan Cinsiyet Farklılaşmasının Kronolojisi(18,19)	7
Tablo 2. Sperm Referans Değerleri(9)	24
Tablo 3. RT-PCR döngüleri.....	35
Tablo 4. Kullanılan kitlerin içeriği.....	35
Tablo 5. Kullanılan RT-PCR primerlerine ait bilgiler	37
Tablo 6. sayısal kromozomal Anomalisi olan infertil bireylerin karyotip dağılımı ..	39
Tablo 7. Olgularda görülen yapısal kromozomal anomaliler	40
Tablo 8. İnferil vakalarda kromozomal anomali dağılımı	40
Tablo 9. infertil olgularda görülen kromozomal polimorfizmler(heterokromatin varyantlar)	41
Tablo 10. vakaların yaş ortalamaları ve infertilite süresi	42
Tablo 11. 47,XXY vakalarında LH ve FSH değerleri.....	43
Tablo 12. LH ve FSH değerleri sıfıra yakın bazı kromozomal anomaliler(birer hastada)	43
Tablo 13. Y-mikrodelesyon pozitif vakaların mutasyon bölgeleri	44
Tablo 14. Y-mikrodelesyon ile beraber kromozomal anomali saptanan vakalar	45

Azospermi Ve Oligospermi Hastalarda Kromozom Analizi Ve Y-Mikrodelesyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Cihan DURMUŞ

Danışman: Prof. Dr. Selehattin TEKEŞ

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyoloji

1. ÖZETLER

1.1. Türkçe Özet

Amaç: Bu çalışma Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümüne azospermi ve oligospermi tanısıyla gelen idiyopatik infertil hastalarda, RT-PCR ile Y-mikrodelesyon ve sitogenetik yöntemlerle karyotip incelemeler yaparak, idiyopatik erkek infertilitesinde genetik faktörlerin etkisini ve sıklığını araştırmayı amaçlamıştır.

Gereç ve Yöntem: Tıbbi biyoloji ve Genetik Bölümüne 2021 ve 2023 yılları arasında başvuran 410 azospermik birey ve 140 oligospermik bireye karyotip analizi ve Y-mikrodelesyon analizi yapıldı. Hastaların yaş, infertilite süresi, biyokimya sonuçları ve pedigrileri kaydedildi.

Bulgular: Çalışmamızda toplam 550 infertil hasta incelendi 27(%4,9)'sinde Y-mikrodelesyonu saptandı. Y-mikrodelesyon saptanan vakaların tamamı azospermikti. Vakalardan 5'inde AZFb+c delesyonu, 1 vakada AZFa+b delesyonu, 1 vakada AZFa+c ve 1 vakada AZFa+b+c delesyonu saptandı. Çalışmamızda 27 Y-mikrodelesyonu pozitif hastalardan en az görülen delesyon 6(%1,09) vakada AZFa(sY86)'ydi. En sık görülen delesyon 14(%2,54) vakada AZFb(sY127)'ydi. Vakalardan 4'ünde sadece AZFc delesyonu, 8'sinde sadece AZFa ve 7'sinde sadece AZFb delesyonu saptandı. Çalışmamızda 421 vakada sitogenetik inceleme yapıldı, 14(%3,33) hastada yapısal kromozomal anomali saptandı, bunlardan 3'ü oligospermi vakasıydı, 58(%13,77) hastada sayısal kromozomal anomali tespit edildi. Klinefelter sendromu 53(12,5) vakada tespit edildi. Oligospermi vakaların hiçbirinde sayısal kromozomal anomali görülmedi. Çalışmamızda 72(%17,1) bireyde karyotip anomalisi

saptandı. Çalışmamızda heterokromatin varyantı 421 infertil bireyden 100(%23,75) bireyde saptanmıştır. En sık heterokromatin varyantı 36(%8,55) vakada 46,XY,9qh+ karyotipi olarak görüldü.

Sonuç: İnfertil erkeklerdeki bulgular, üreme sağlığı tedavilerinde genetik profilin önemini vurgulamakta ve klinik uygulamalarda genetik testlerin daha yaygın kullanımını ve bu testlerin infertilite değerlendirmeleri için standart bir uygulama haline getirilmesini teşvik etmektedir. Sitogenetiğin ve Y-mikrodelesyonlarının erkek infertilitesindeki rolü, daha iyi bir danışmanlık ve tedavi olanağı sunabilir.

Anahtar Kelimeler: Azospermi, Oligospermi, Y-Mikrodelesyon, Heterokromatin Varyantı, Sitogenetik

Evaluation Of Chromosome Analysis And Y-Microdeletions Results İn Patients With Azospermia And Oligospermia

Student's Surname and Name: DURMUŞ Cihan

Adviser of Thesis: Prof. Dr. TEKEŞ Selehattin

Department: Medical Biology

1.2. Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the effect and frequency of genetic factors in idiopathic male infertility in idiopathic infertile patients with azoospermia and oligospermia in the Department of Medical Biology and Genetics by performing Y-microdeletion analyses using RT-PCR and cartyotype analyses using cytogenetic methods.

Metarials and Methods: Karyotype analysis and y-microdeletion analysis were performed in 410 azoospermic individuals and 140 oligospermic individuals admitted to the Department of Medical Biology and Genetics between 2021 and 2023. Age, duration of infertility, biochemistry results and pedigrees of the patients were recorded.

Result: In our study, a total of 550 infertile patients were analysed and Y-microdeletion was detected in 27 (4.9%) of them. All cases with Y-microdeletion were azoospermic. AZFb+c deletion was found in 5 cases, AZFa+b deletion in 1 case, AZFa+c in 1 case and AZFa+b+c deletion in 1 case. Among the 27 Y-microdeletion positive patients in our study, the least common deletion was AZFa(sY86) in 6(1.09%) cases. The most common deletion was AZFb(sY127) in 14(2.54%) cases. Only AZFc deletion was found in 4 cases, only AZFa deletion was found in 8 cases and only AZFb deletion was found in 7 cases. In our study, cytogenetic examination was performed in 421 cases, structural chromosomal abnormalities were detected in 14 (3.33%) patients, 3 of which were oligospermia cases, and numerical chromosomal abnormalities were detected in 58 (13.77%) patients. Klinefelter syndrome was detected in 53(12,5) cases. No numerical chromosomal abnormality was observed in any of the oligospermia cases. In our study, karyotype abnormalities were detected in 72(17,1%) individuals. In our study, heterochromatin variant was found in 100(23,75%) of 421 infertile individuals. The most common heterochromatin variant was 46,XY,9qh+ karyotype in 36(8,55%) cases.

Conclusion: The findings in infertile men emphasise the importance of genetic profiling in reproductive health treatments and encourage more widespread use of genetic testing in clinical practice and the standardisation of such testing for infertility evaluations. The role of cytogenetics and Y-microdeletions in male infertility may lead to better counselling and treatment.

Key Words: Azoospermia, Oligospermia, Y-Microdeletion, Heterochromatin Variants, Cytogenetics



2. GİRİŞ ve AMAÇ

İnfertilite 12 aydan daha uzun süre düzenli ve korunmasız ilişkide gebe kalınmaması olarak tanımlanmaktadır (1–5). İnfertilite doğurganlık çağındaki tüm çiftlerin %9-15’ni etkileyen yaygın bir durumdur(3,4). Erkek infertilitesi infertil çiftlerinin %50 sinde görülmektedir(2). Tek başına ise infertil çiftlerin %20’sinin nedenidir(1). Erkek infertilitesinin pek çok nedeni söz konusudur(varikozel, orşit, epididimit, prostat, testis tümörleri, inmemiş testis vb.)(6). Ancak genel olarak erkek infertilitesinin %40’ının idiyopatik olduğu rapor edilmiştir (7,8).

Erkek infertilitesinde USG, radyolojik görüntülemeler, biyokimya, genetik ve semen analizi gibi yöntemler standart tanı koyma araçlarıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2010 yılında yayımladığı verilere göre, bir insanın sperm testinde ideal koşullarda spermlerin total sayısı örnekte 39 milyon (mililitrede 15 milyon olmalıdır), ileri doğru hareketliliği %32 veya daha fazla olmalıdır, pH’ı 7,2’den büyük olmalıdır, hacmi en az 2 ml olmalıdır ve normal şekilli sperm oranı (morfoloji) %4’ten yüksek olmalıdır(9). Bazı veriler normal sperm sayısı oranı ile hamilelik arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir(10).

Normal döllenme ve gebelik için, ister erkek ister kadın olsun, anatomik, fizyolojik, genetik ve çevresel faktörlerin bireysel ve genel norm ve işlevlere uygun olması gerekir (11).

İnfertil erkeklerde kromozomal anormalliklerin görülme sıklığı genel erkek popülasyonuna kıyasla 10-20 kat daha fazladır (%0,7-1); görülme sıklığı %2,2 ile %14,3 arasında değişir ve genel görülme sıklığı %7,1’dir(12). Şiddetli erkek faktörlü kısırılık, özellikle azospermi veya şiddetli oligospermi içeren vakaların yaklaşık %15-20’si, teşhise dayalı olarak genetik faktörlere bağlanmaktadır(13–15).

Bu araştırma, en az iki yıldır evli olmalarına rağmen çocuk sahibi olamayan ve azospermi veya oligospermi ön tanısı konmuş erkek bireylerde genetik nedenlerin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. 2021-2023 yıllarında Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarına başvuran idiyopatik 550 olguda (410 azospermik, 140

oligospermik) infertil erkek için periferik kan örneği alınarak hem moleküler genetik hem de sitogenetik açısından çalışma yapıldı. Çalışmanın amacı İnfertil bireylere uygun tedavi ve genetik danışmanlık verilebilmesi için azospermi ve oligospermi etiyolojisine yönelik standart sitogenetik yöntemler ile kromozom anamolalilerinin ve moleküler genetik yöntemler ile Y-kromozom mikrolelesyon analizleri yapılarak anomalilerin sıklığı ve tiplerini araştırmaktır.

İdiyopatik erkek infertilitesinin nedenlerinden biri olan Y-kromozom mikrolelesyonları polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespit edilmesine rağmen tespit edilen delesyonların düzeltilmesine ve tedavisine dair bir yöntem henüz bulunmamaktadır. Analizlerde tespit edilen mikrolelesyonlar azospermi ve oligospermi olgularının tanısını kolaylaştırmakta ve prognozun seyrini netleştirmeye yardımcı olmaktadır. AZFa ve AZFb mikrolelesyonlu hastalarda ICSI için TESE işlemi ile sperm eldesine açıklık getirmektedir. Ayrıca Y-kromozom mikrolelesyonu olan hastaların eşlerinde habitual abortus sayısını artırdığı ve doğacak kuşaklarda mental motor reterdasyon insidansını artırdığı çalışmalarca ortaya konmuştur(16). Tüm bu çalışmalara dayanarak azospermi veya oligospermi olan hastalarda ICSI öncesi Y-kromozom mikrolelesyonu ve sitogenetik analizlerinin yapılması önem arz etmektedir.

Çalışma sonunda yapılacak analiz ve istatistiklerle azospermi ve oligospermi hastalarının gruplandırılması, bu hastalığa sebep olan kromozomal anomaliler veya Y-kromozom mikrolelesyonların oranı ve sıklığının hesaplanması, bu hesapların biyokimya sonuçlarıyla ve kendi aralarında değerlendirilmesiyle hem infertil erkeklerin doğru tedaviye yönlendirilmesi ve yardımcı üreme tekniklerine başvuracak çiftlerin, gelecekte oluşabilecek sorunlara karşı bilgilendirilmeleri hemde literatüre kaynak olması hedeflenmiştir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Erkek Üreme Sistemi

İnsan embriyosunda, varsayılan cinsel farklılaşma dişi yönelimlidir. Ancak, Y kromozomunun varlığı, erkek fenotipine ve erkek üreme sistemine farklılaşmayı sağlar. Y kromozomu, insanlarda cinsiyet belirleyici bir bölge olan, SRY genini içerir. Bu bölge testisin gelişimini kodlayan bilgiye sahiptir. Testisler, gelişim sürecinde karın arka duvarından aşağı inerek olgunlaşır ve skrotuma yerleşir. Bununla beraber, testisler, dişi üreme sistemi olan Müllerian kanallarını geriletici etkiye sahip olan, MIS üretimi yapan Sertoli hücrelerinin de oluşturur. Testisler, erkek üreme gelişiminin temel faktörü olan testosteronu üreten Leydig hücrelerini de geliştirirler(17).

Tablo 1. İnsan Cinsiyet Farklılaşmasının Kronolojisi(18,19)

Gebelikten itibaren yaş	CR uzunluğu (mm)	Etkinlik
22 gün	2-3	Ara mezoderm görünür hale gelir Yolk kesesindeki Primordial germ hücreleri
24 gün	2,5-4,5	Katı Wolffian kanallarının oluşumu İlkel germ hücreleri arka bağırsağa göç eder
26 gün	3-5	Wolffian kanalları arka bağırsakta bir lümen Primordial germ hücreleri geliştirir
28 gün	4-6	Primordiyal germ hücreleri ürogenital çıkıntılara göç eder
32 gün	5-7	Gonadal primordia Wolffian kanallarının büyümesini geliştirir
33-37 gün	7-11	Primordial germ hücreleri gonadal çıkıntıya ulaşır Ürogenital sinüs ayırt edilebilir Müllerian kanalların farklılaşması Genital tüberkül ve üretral kıvrımlar görülebilir
41-44 gün	11-17	Seminifer kord farklılaşması Ürogenital sinüsün pelvik ve fallik kısımları arasındaki farklılaşma
44-50 gün	15-20	Germ hücreli seminifer kordonlar
50-60 gün	30	AMH sekresyonunun başlaması Leydig hücre farklılaşması Müllerian kanalların kranial kısmı gerilemeye başlar

9 hafta	40	Leydig hücreleri testosteron üretir Ürogenital sinüs ve dış genital bölgede erkekleşmenin başlaması
10 hafta	45-50	Oositlerin medullaya mayotik girişi Dişi Wolffian kanallarında dejenerasyonun başlangıcı Erkek Müllerian kanalları kaybolmuştur Prostat tomurcukları ortaya çıkar
12 hafta	55-60	Vajinal kord oluşur Primordiyal foliküller belirir Seminal veziküller gelişir İç kasık halkasında testisler oluşur
14 hafta	70	Erkek üretral organogenezinin tamamlanması
16 hafta	100	Birincil foliküller ortaya çıkıyor
20 hafta	150	Testosteron serum seviyesi düşük Prostatik utrikül oluşumu
22 hafta	180	Vajina perineye ulaşır
24 hafta	200	Graaf folikülleri ortaya çıkıyor Penis büyümesinin başlangıcı
27-30 hafta	230-265	Testisin inguino-skrotal inişi
36 hafta	300	İkincil ve üçüncül foliküller AMH üretir

Erkek üreme sistemi iç yapılardan oluşur: testisler, epididim, vas deferens, prostat ve dış yapılar: skrotum ve penis. Bu yapılar, döllenme ve erkek gelişimi için önemli olan androjenlerin üretimi için spermi destekleyen, depolayan ve serbest bırakan birçok kas, çok sayıda bez ve kanal içerir (17).

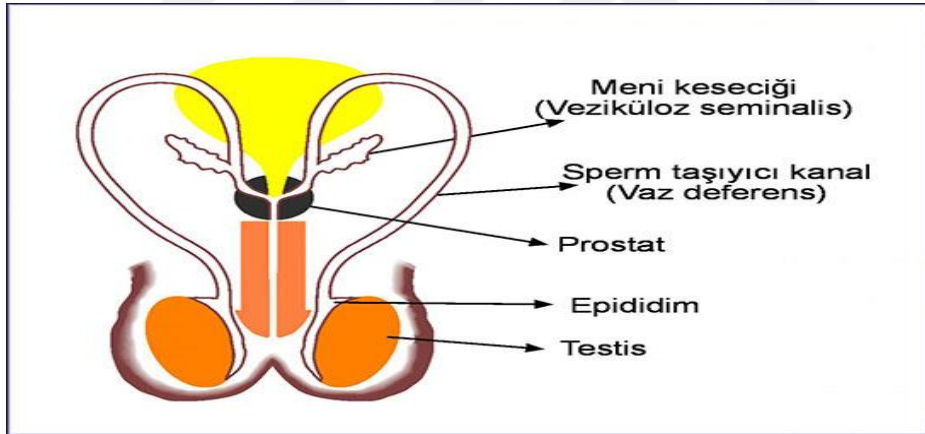
3.1.1. Erkek Üreme Organları

3.1.1.1. Testis

Erkek cinsiyet bezleri olan testisler, hem endokrin hem de ekzokrin işlevlere sahiptir. Oval şekilli üreme yapıları, skrotumda bulunur ve skrotal septum ile ayrılırlar. Testislerin formu fasulye şeklinde olup, 3 cm x 5 cm boyutlarındadır ve 2 cm ila 3 cm genişliğindedir. Elle muayene edildiğinde testisler pürüzsüz ve yumuşaktır. Spermatik kord testisin üst kısmını askıya alırken, alt uçta testisler skrotuma skrotal ligaman

aracılığıyla bağlanır. Genellikle sol testis, sağ testise göre biraz daha aşağıya yerleştirilir(17,20,21).

Çift katmanlı tunika vajinalis, epididim ve spermatik kordonun posterior ve üst sınırlarını sarmakla birlikte testisleri sarar. Tunika vajinalisin visseral veya iç tabakası epididim, testisler ve vas deferens'e yakındır. Testislerin posterior lateral yüzeyinde, testisler ve epididimin gövdesi arasında küçük bir boşluk olan epididimin sinüsü bulunmaktadır. Tunica vaginalis'in derinliklerinde, testislerin dayanıklı lifli bir kaplaması olan tunica albuginea bulunmaktadır. Testis, erkek üreme sisteminde sperm üretimi ve androjen üretimiyle sorumlu olan bir bez olarak görev yapar. Testosteron seviyeleri, ön hipofizden salgılanan Luteinize Hormon (LH) tarafından düzenlenirken; Folikül stimüle edici Hormon (FSH) seviyeleri ise sperm üretimini kontrol etmektedir(17,21–25).



Şekil 1. Erkek üreme sisteminin bir şeması

3.1.1.2. Epididim

Testis'in üst-arka kenarında bulunan epididimde sperm'ler fonksiyonel olgunluğa doğru gitmekte ve bir bölümü burada depolanmaktadır. Epididim, yaklaşık olarak 4 cm uzunluğunda tek bir kanalcık yumağıdır. Daha sonra kanalcıklar birleşerek tek bir kanal duktus epididim meydana getirir. Kanalcık yumağı açıldığında uzunluğu 6 metreyi aşar. Epididimin kaput epididim, korpus epididim ve kauda epididim olarak

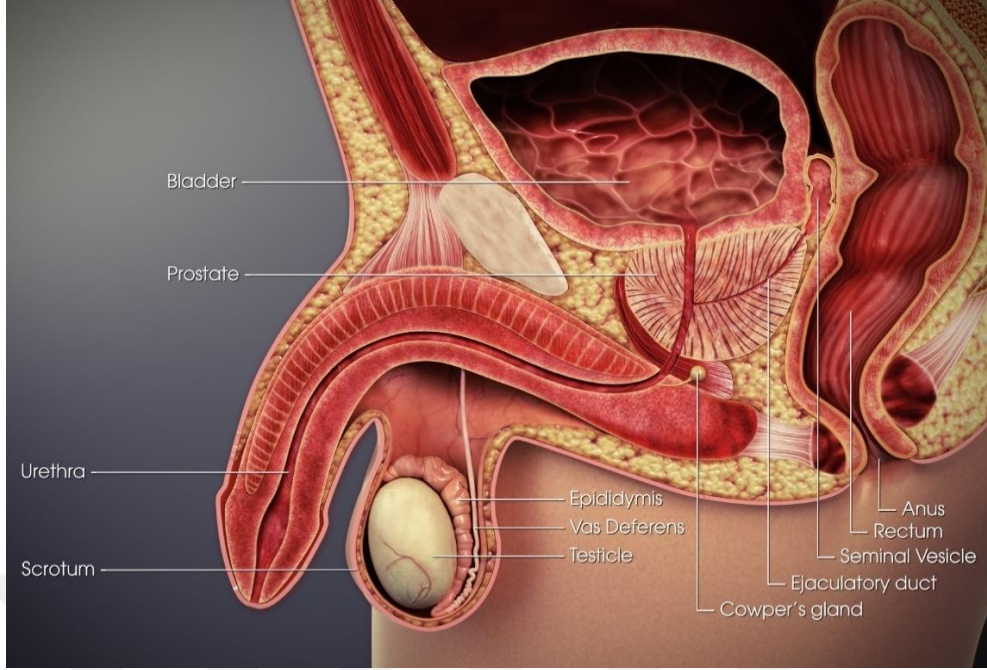
üç bölümü bulunmaktadır. Kauda epididim, testis'in alt ucunda yer almakta ve duktus deferens olarak devam etmektedir. Testisten sperm hareketi ile birlikte epididime büyüme ve yerleşme gösteren sperm epididimin üç farklı bölgesine yerleşir. Testislerinde olgunlaşmaya ulaşan spermier alt faringeal epididim'de korunur ve burada olgunlaşmanın son aşamasına ulaşırlar. Testisler olgunlaşmamış spermatogonyum üretir ve sperm hareketi bu evrede yoktur. Bu nedenle sınıflandırılmak adına ovum'u dölleme yeteneği yoktur. Epididim'de hareket yeteneğini kazandırır. Prostat salgısının eklenmesi ile hareketlilik son şeklini alır. Ovumu dölleyebilecek duruma gelmesine kapasitasyon denir(21,26).

3.1.1.3. Ejakülat

Epididim, duktus deferens, vesikula seminalis, prostat ve gl. bulbouretralis salgılarının karışımı ile oluşan ve içinde spermier bulunduran sıvıdır. Bu sıvı özel kokulu ve yapışkandır. Genellikle 3-4 ml hacminde olup, 300-400 milyon aralığında sperm bulunur. Totalde sperm hücleri, yaklaşık olarak ejakülatın %10'u kadardır; diğer kısımlar ise bezlerin salgılarından kaynaklanır. Glandula vesikulosa salgısı, ejakülatın en büyük bölümünü (%60'ı) oluştururken, %30'u prostat, %10'u duktus deferens, glandula bulbouretralis ve diğer bezlerin salgılarından oluşur. Ejakülatın %90'ından fazlası sudur. Bununla birlikte, birçok madde içermektedir; özellikle fruktoz yoğun bir şekilde bulunmaktadır. Ayrıca C vitamini ve inositol gibi iki adet vitamin içerir. Ejakülat içinde kalsiyum, çinko, magnezyum, bakır ve sülfür gibi elementler de bulunur(26).

3.1.1.4. Ductus Deferens(Vas Deferens)

Erkek üreme sisteminde Duktus epididimi kuyruk kısmında kalınlaşarak duktus deferens adını alır. Yukarıya doğru yönelir ve funikulus spermatikus içinde inguinal kanaldan salınarak karın boşluğuna girer. vesikula seminalis'in kanalı ile birleşerek duktus ejakulatorius adını alır ve prostat'ın içinden geçip pars prostatik üretraya açılır (26).



Şekil 2. Vas deferens ve erkek üreme sisteminin diğer önemli bileşenlerini gösteren 3 boyutlu tıbbi illüstrasyon(27)

3.1.1.5. Prostat

Prostatın temel görevi, seminal sıvının büyük kısmını oluşturan proteinleri ve iyonları sağlamaktır. Yetişkin insan prostatı, psödostratifiye kolumnar epitel ile kaplı kanallardan oluşan tubuloalveolar bir bezdir. Bu kanalları kaplayan hücreler uzun kolumnar şekillidir ve bazal çekirdekli sekretuar yapıdadırlar. Neredeyse sürekli bir tabaka halinde olan bazal epitel hücreleri, epitelyal bazal membrana dayanır. Prostatik epiteli yoğun bir fibromusküler stroma ile çevrilidir(22,28).

3.1.1.6. Seminal Vezikül

Seminal veziküller, uzunluğu 2-4 cm ve çapı 1-2 cm olan, mesanenin arkasında bulunan yapılar olarak bilinir. Bu veziküller, epitelyal tübüler alveollerden, elastik fibril tabakalardan ve düz kas hücrelerinden oluşur. Seminal veziküller, fruktoz bakımından zengin bir sıvı üreterek ejakülatör hacminin %50-80'ine katkıda bulunurlar. Veziküllerde, sempatik ve parasempatik lifler bulunur ve düz kas tabakaları adrenerjik innervasyona sahiptir. Bununla birlikte, kolinerjik sinir sonlanmaları glandüler epitelin seviyesinde bulunur. Seminal veziküllerde NANC

lifleri de mevcuttur ve bu lifler, seminal veziküllere ek innervasyon sağlarlar. Seminal sıvı, ejakülasyon sürecinin emisyon aşamasına kadar veziküllerde depolanabilir ve ardından düz kaslar tarafından ejakülatör kanallara enjekte edilir. Ejakülatör kanalları, prostattan geçer ve prostatik üretraya açılır(23).

3.1.1.7. Penis ve Skrotum

Penis, ereksiyon dokusunu içeren üç silindirik süngerimsi yapıdan meydana gelir: eşleşmiş corpora cavernosa ve corpus spongiosum. Bu yapılar, penisin ventral tarafında yer alan üretra ile çevrilidir (şekil 2). Corpora cavernosa, penisin köklerini oluştururken, corpus spongiosum ise glansı oluşturmak için kavernoza korpusunun distal kısmında genişler. Sinüslerden oluşan bu süngerimsi dokular, trabeküller tarafından endotel ile kaplanmıştır. Corpora cavernosa ve corpus spongiosum, tunika albuginea adı verilen bir bağ dokusu septasıyla ayrılmıştır. Penisin bu yapısal düzenlemesi, onun süngerimsi bir görünüm kazanmasını sağlar. Penis, çok katmanlı iç dairesel bir yapıya sahiptir ve cavernosaları tunika albuginea ile sarıdır(23).

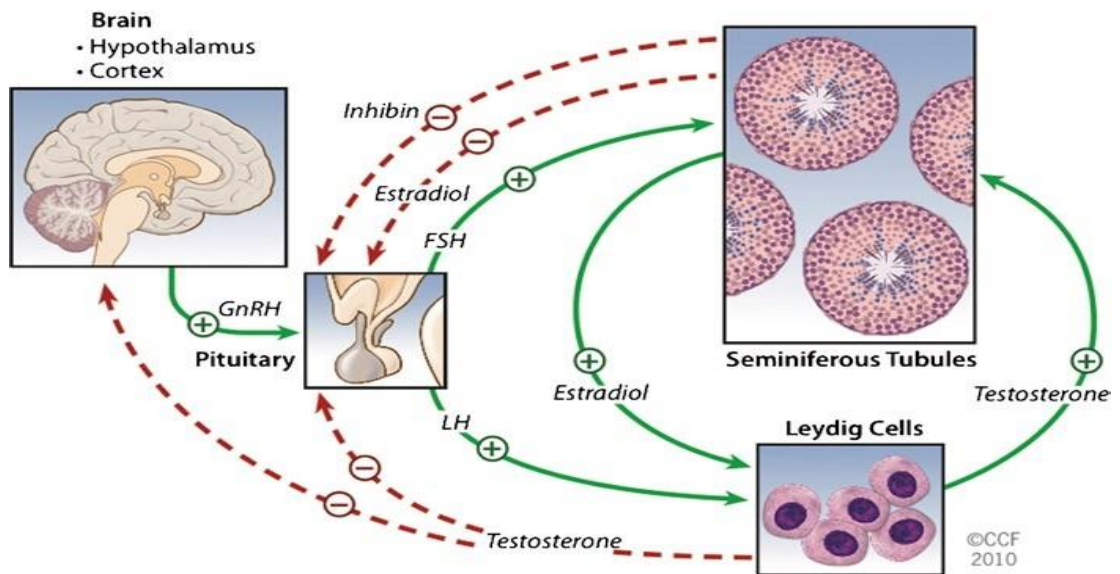
Skrotum, penisin altında yer alan ve cilt ile düz kas dokusundan oluşan ince bir dış kese olarak bilinir. Bu kese, skrotal septum tarafından iki bölüme ayrılmıştır. Skrotumun ortalama duvar kalınlığı yaklaşık 8 mm'dir ve parietal ile visceral olmak üzere iki tabakadan oluşur. Parietal tabaka, skrotal duvarın iç yüzeyini kaplar ve visceral tabaka testis ve epididim üzerine katlanır. Skrotal kese içerisinde yer alan bileşenler arasında dış spermatik fasya, epididim, testisler, ve ayrıca spermatik kord bulunmaktadır. Skrotum, testislerin korunmasından sorumlu olup, testislerin termoregülasyonuna yardımcı olur. Özellikle sperm üretimi için önemli olan testis sıcaklığını, ortalama vücut sıcaklığının birkaç derece altında tutar(21,22,29).

3.1.2. Spermatogenez

Erkek üreme sisteminin temelde görevi diploit germ hücrelerinden haploit hücreler(sperm) üretmek, taşınmasını ve depolanmasını sağlamaktır. Bu süreç oldukça karmaşıktır. Bir dizi olay sonucunda gerçekleşir. Erkek infertilitesini anlamak için spermatogenez sürecinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Spermatogenez süreci, türden türe değişiklik gösterebilir. Araştırmalar, insanlarda spermatogenezin tamamlanması

için ortalama olarak 42 ila 76 gün arasında bir süre gerektiğini göstermektedir. Bu süre, spermatogenezin farklı aşamaları arasında değişebilir ve bu değişkenlik kişinin yaşıyla beraber, kişinin sağlık durumuna ve diğer nedenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu bilgi, erkek üreme sağlığıyla ilgili araştırmalarda ve tedavi planlarının oluşturulmasında önemli bir rol oynar(3,30–32). Spermatogenez, hormonal kontrolle başlatılır ve bu sürecin başlatılması hipotalamus tarafından düzenlenir (Şekil 3.).

Hipotalamus, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salgılar, bu da lüteinizan hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salınımını tetikler. LH, erkek üreme organı olan Leydig hücrelerini uyararak steroid üretimine yardımcı olurken, FSH Sertoli hücrelerini uyararak spermatogenezin çeşitli aşamalarında proliferatif ve gelişimsel süreçlere katkıda bulunur. Bunların yanı sıra, adenohipofiz veya anterior hipofiz lobu, LH ve FSH'nin yanı sıra adrenokortikotropik hormon, prolaktin, büyüme hormonu ve tiroid uyarıcı hormon salgılar. Bu hormonlar, spermatogenez sürecinde önemli bir rol oynar. Temel hormonlar, üreme eksenini merkezi organı olan testislerde spermatogenez başlatır. GnRH uyarıları, üç tür ritmiklik aracılığıyla düzenlenir. Mevsimsel; en yüksek GnRH üretimi ilkbaharda gerçekleşir. Sirkadiyen; en yüksek günlük regülatör sabahın erken saatlerinde ortaya çıkar ve pulsatil en yüksek çıktı ortalama olarak her 90-120 dakikada bir gerçekleşir(3,32).



Şekil 3. Hipotalamik hipofiz ekseninin ve hormonal geri bildirim sisteminin şematik gösterimi(2).

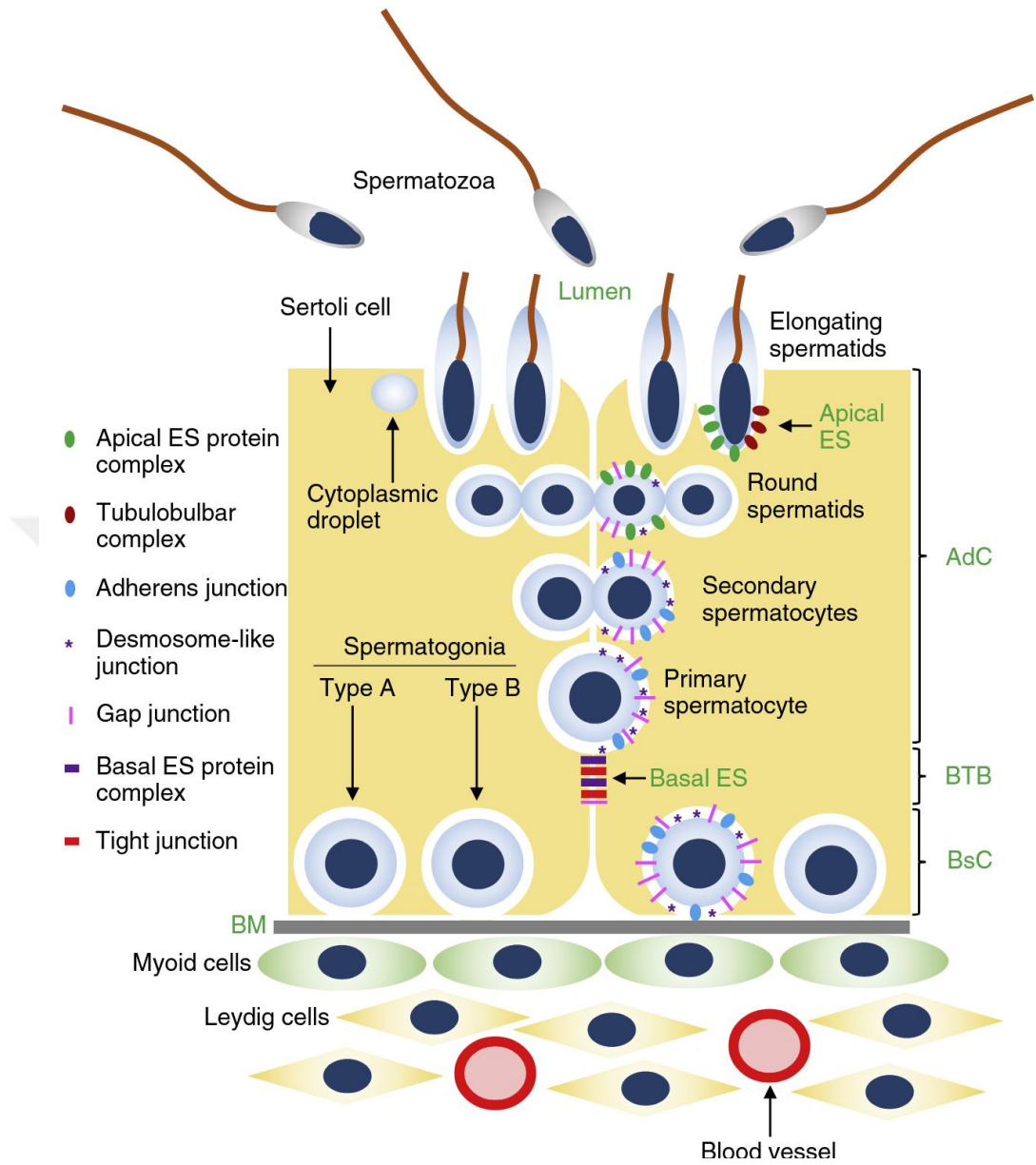
Spermatogenez, erkek üreme hücrelerinin, yani spermilerin üretim sürecidir(32). Bu süreç, karmaşık bir dizi olayı içerir ve temel olarak üç aşamada gerçekleşir.

Çoğalma ve Spermatogonia Farklılaşması: Bu aşamada, spermatogonia adı verilen kök hücreler çoğalır ve farklılaşır. Spermatogonia, testislerin bazal bölgesinde yer alır ve bazal membrana doğrudan temas eder. Bu hücreler, aktif bir mitotik replikasyon süreciyle embriyonik gelişim sırasında farklılaşmaya başlarlar.

Mayoz bölünme: Spermatogonia, mayoz bölünme yoluyla spermatositlere dönüşür. Bu aşamada, birincil spermatositler ikincil spermatositlere ve daha sonra spermatidlere dönüşür. Mayoz bölünme, kromozom sayısının yarıya indirilmesini sağlar ve genetik çeşitliliği artırır.

Spermioyenez: Bu aşama, mayoz bölünmenin ardından gerçekleşir. Spermatidler, kompleks bir süreç olan spermioyenezle spermatozoon adı verilen karmaşık yapıya dönüşürler. Bu süreçte, hücrelerin şekli ve yapıları büyük ölçüde değişir ve olgunlaşan spermatozoonlar oluşur.

Seminifer tübül içinde, germ hücreleri çok düzenli bir sırayla yerleşmiştir. Spermatogonia, doğrudan bazal membrana temas eder ve zamanla spermatositler ve spermatidler şeklinde ilerlerken tübül lümenine doğru hareket eder(şekil 4). Bu süreçte sıkı bağlantı bariyeri, spermatogonia ve erken spermatositlerin bazal bölgede kalmasını sağlar ve daha olgun germ hücrelerinin adluminal kompartımana doğru ilerlemesini destekler. Bu düzenli düzenleme, etkili bir spermatogenez sürecini sağlar(31–33).



Şekil 4. Seminifer tübüldeki germinal epitelin kesiti(31).

3.2. Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri

Spermatogenez sürecindeki aksaklıklar veya bu sürecin başlaması için gereken ön koşullardaki herhangi bir defekt erkek infertilitesine neden olur. Spermin varlığı, sayısı, morfolojisi infertilite için önemli parametrelerdir. Erkek infertilitesinin pek çok

nedeni vardır. Bu nedenler yaş, obezite, radyasyon, besleme alışkanlığı, alkol ve sigara tüketimi, varikosel, yaralanma olabileceği gibi tamamen genetik nedenlerden de kaynaklanabilir.

3.2.1. Kromozomal Bozukluklar

Normal insan somatik hücreleri, toplamda 46 kromozom taşıyan, bu kromozomların bir çiftinin cinsiyet kromozomları ve 22 çiftinin ise otozomal kromozomlar olduğu diploid(2n) hücrelerdir. Genellikle kromozomal anomalilerin normal popülasyonda %0,5 oranında görülür ancak infertil erkek bireylerde bu oran yaklaşık %5,1'dir. Azoospermik erkek hastalarda kromozom anomalileri %13,7 ve oligozoospermik erkek bireylerde ise %4,6 oranında görülmektedir. İnfertil bireylerde cinsiyet kromozomu anomalilerinin, otozomal kromozom anomalilerine göre dahada sık gözlendiği belirlenmiştir. Kromozom anomalileri sayısal ya da yapısal olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır(15,34,35).

3.2.1.1. Yapısal Bozukluklar

Yapısal kromozom anomalileri, inversiyon, delesyon, duplikasyon ve translokasyon gibi çeşitli türlerde olabilir. Özellikle translokasyonlar gibi yapısal kromozom bozuklukları, infertil erkeklerde normal popülasyona göre 8,5 kat daha sık görülürken, inversiyonlarda normal popülasyondan 8 kat daha sık görülür(34).

3.2.1.2. Sayısal Bozukluklar

En sık görülen sayısal kromozomal anomaliler, Klinefelter Sendromu olmakla beraber, XYY erkek, XX erkek birey ve Miks Gonadal Disgenezi (MGD)'dir

3.2.1.2.1. Klinefelter Sendromu

Klinefelter sendromu (XXY anöploidisi), sayısal kromozomal anomalilerden, insanlarda en sık görülen cinsiyet kromozomu bozukluğudur ve prevalansı 500 erkekte birdir. Klinefelter sendromlu bireylerin klasik karyotipi, %90'ında 47XXY, %10'unda

da 46XY/47XXY (mozaik) şeklindedir. İnfertil olgularda bu sendroma, oldukça sık rastlanır (%14) ve fenotiplerinde uzun boy, aşırı vücut kitle indeksi (BMI), IQ değerinde düşüklük. Bazı olgularda diyabet ve lösemiyle birliktelik gösterir(34–39). Testislerde atrofi ve tübüler skleroz nedeniyle hipergonadotropik hipogonadizm ve buna bağlı infertilite görülür. Hastaların %60'ında, yaşa bağlı olarak testosteron seviyelerinde azalma görülür ve bu durumda androjen replasman tedavisi gerekebilir(35,40).

3.2.1.2.2. XYY sendromu

Genel popülasyonda binde 1 görülen bu durum, fenotipleri normal erkektir. Ancak bu hastalardan alınan semen örneklerinde, ağır maturasyon defektleri, Sertoli Hücreleri Tek Başına Sendromu (SCOS) ve sperm sayısının normalden az olması gibi durumlarla beraber mental retardasyon gözlemlenir(35).

3.2.1.2.3. XX sendromu

Toplumda 1/20.000 sıklığında görülen XX erkekler, erkek fenotipine sahiptirler ve Y(SRY)>X translokasyonu taşırlar. Bu vakalarda ambigius genitale, jinekomasti ve hipospadias gibi durumlar gözlemlenebilir ve binde 9'u azoospermiktir(35,41).

3.2.1.2.4. Miks Gonadal Disgenezi

Her canlı doğumda 1/5000 oranında görülen Miks Gonadal Displazi'de, 45 X/46 XY mozaikliği sıklıkla gözlenir ve bu hastaların yaklaşık %33'ü kadarında normal bir karyotip bulunur.45X/47XYY şeklinde görülen vakalarda vardır(42). Bu durumda germ hücre aplazisi ve ambigius genital bulguları patogonomiktir(35,43).

3.2.2. Gen Düzeyinde Mutasyonlar

Gen düzeyinde bozukluklar, iki ana sınıfa ayrılır: cinsiyet kromozomları

üzerindeki genlerdeki bozukluklar ve tek gen bozukluğuna bağlı ve doğrudan spermin işlevini etkileyen otozomal kromozom bozuklukları. Cinsiyet kromozomlarındaki mutasyonlar, hem X hem de Y kromozomu üzerindeki genlerde olabilir.

3.2.2.1. Cinsiyet Kromozomundaki Mutasyonlar

Cinsiyet kromozomları olan ve farklı sayıda gen içeren X veya Y kromozom üzerindeki gen düzeyindeki mutasyonlardır.

3.2.2.1.1. X Kromozomunda Mutasyonlar

Erkek infertilitesinde önem taşıyan X-e bağlı mutasyonlar annede olduğunda genellikle görünür belirtiler ortaya çıkmaz, ancak bir erkekte ortaya çıktığında belirgin belirtiler gözlemlenebilir. Bununla birlikte, mutant genin gelecek kuşaklara yayılması genellikle sınırlıdır.

X kromozomu, 1098 genden oluşur ve bunların 99'u testis dokusunda ve çeşitli kanserli dokularda ifade edilir. X kromozomu genlerinin yaklaşık %10'unu oluşturan bu genlere Kanser-Testis grup genleri denir(35,44).

Kallman Sendromu

Kallman sendromu, genetik olarak heterojen bir gelişimsel hastalıktır ve genellikle spontan ergenliğin olmaması ve koku alma duyusunun kusurlu olması (hipozmi veya anozmi) ile birlikte ortaya çıkar. X kromozomuna bağlı en sık görülen bozukluktur. X kromozomunun kısa kolundaki bölgede olan Xp22.3 geni (KAL1 geni)'nde mutasyon nedeniyle gelişir.

Görülme sıklığı 1/60000'dir. Kallman sendromunda, hipotalamustan GnRH sekresyonunda bozulma meydana gelir, bu da hipogonadotropik hipogonadizm ve neticesinde erkek infertilitesiyle ilişkilidir. Embriyolojik gelişimde GnRH salgılayan nöronların olfaktor bulbustan hipotalamusa göçünde hasar olduğu için hastalarda

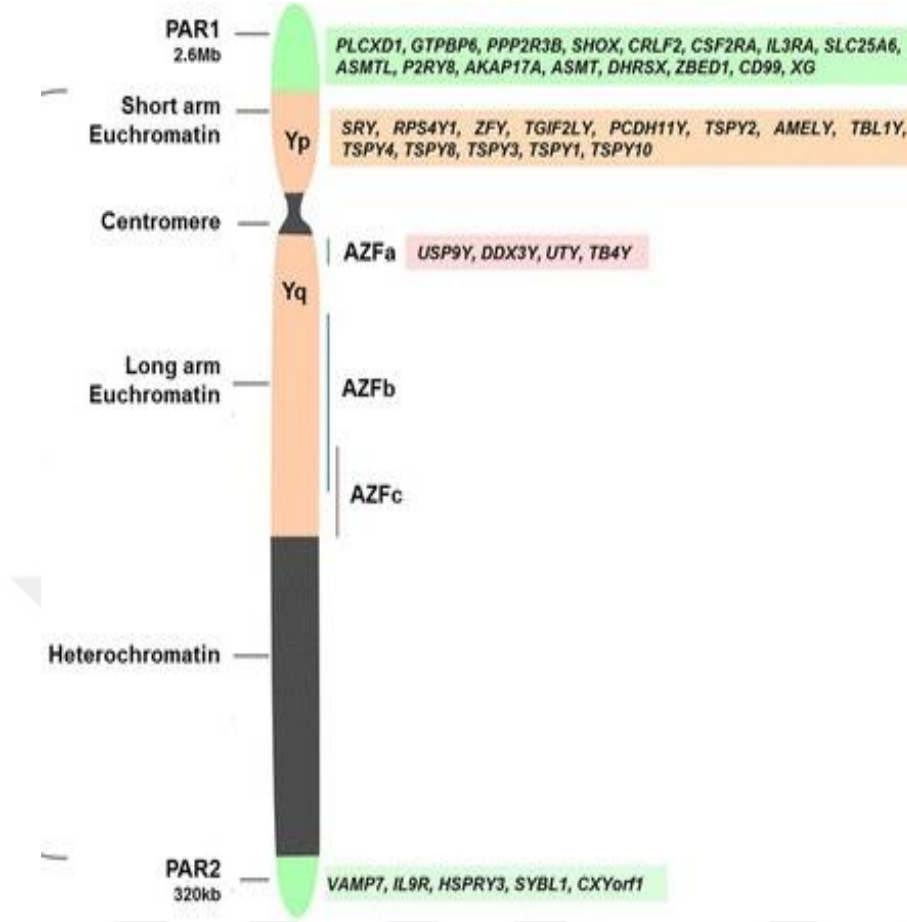
genellikle anozmi (koku alma yeteneğinin yokluğu) mevcuttur. Ayrıca, ince ses, libido kaybı ve erektil disfonksiyon sıkça görülür. Tipik olarak, fenotip uzun boyla beraber, yarı damak, asimetrik bir yüz ve baş görünümü ile karakterizedir(45,46).

Androjen Duyarsızlığı Sendromu

Androjen insensitivite sendromu, Xq11.2-q12 bölgesine bulunan androgen AR geni mutasyonu kaynaklıdır. Komplet(testiküler feminizasyon) yada kısmi tipleri vardır. Komplet tip, androjenin neden olduğu hedef organlarda gelişmeme sonucunda, fenotipi tam bir kadın görünümünde olur ancak karyotip 46XY'dir. Puberte öncesi malignite olasılığı düşüktür. Puberteye ulaşıldıktan sonra gonadektomi önerilir. Parsiyel insensitivite ise internal ductal gelişim bozukluklarının derecesine bağlı olarak farklı fenotiplere neden olabilir. Hipospadias, mikropenis veya ambigüus genitalya gelişme olasılıkları söz konusudur(31,47,48).

3.2.2.1.2. Y Kromozomunda Mutasyonlar

Y kromozomu küçük ve heterokromatik bir yapıya sahiptir. İnsan genomundaki en küçük akrosentrik kromozomdur. 63 gen barındırır(49). Çok sayıda tekrar eden dizilerden oluşur. Embriyonal cinsiyet farklılaşmasında cinsiyeti belirleyen y kromozomunun varlığıdır. Farklılaşma Y kromozomun kısa(p) kolunda (Yp11) yer alan SRY geniyle sağlanır. Spermatogenez ile alakalı genler ise Y kromozomunun q kolunda Yq11'de bulunur(49,50).



Şekil 5. İnsan Y kromozomunun yapısı(51).

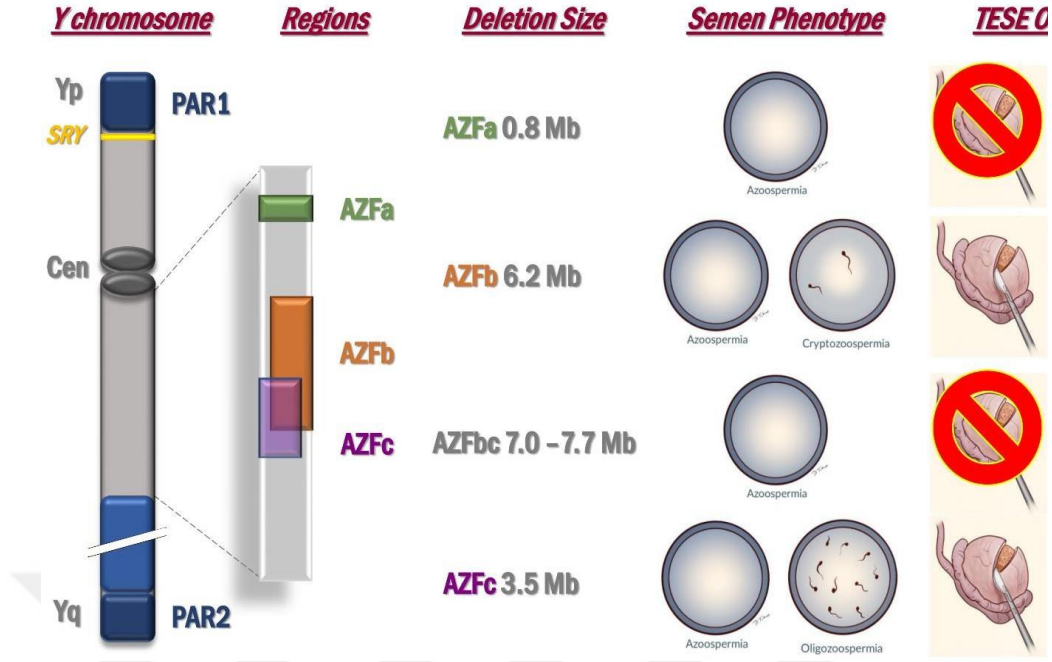
Memeli cinsiyet kromozomları, en az 180 milyon yıl önce otozomlardan evrimleşmiştir. Y kromozomunun farklılaşmasındaki ilk adım, testis belirleyici genin edinilmesini ve ardından büyük ölçekli inversiyonları ve X ve Y kromozomları arasındaki rekombinasyonun aşamalı bir şekilde sıralı baskılanmasını içerir. Y kromozomu evrimsel süreçte küçülmüş ancak tamamen X kromozomun dejenere olmamıştır. İnsan Y kromozomunun evrimi ve günümüzdeki durumuyla ilgili detaylı bir genel bakış, son araştırmaların odak noktası olmuştur(51,52).

Y kromozomunun uzun kolu (Yq), spermatogenez sırasında kendi kendine rekombinasyona yatkın hale gelen ve dolayısıyla kromozom içi delesyonlara duyarlı olan birçok amplikonik ve palindromik dizi içerir. Bu tür silmeler, Y kromozomunun genlerinde kopya sayısı değişimine yol açarak erkek kısırlığına neden olabilir.

Kısırlıkla ilişkilendirilen tekrarlayan üç yaygın Yq delesyonu, AZF (Azospermi Faktörü) mikrolelesyonları olarak adlandırılır; AZFa, AZFb ve AZFc(51).

Yq11.2'deki AZFc bölgesinde bulunan DAZ gen ailesinin silinmesi, erkek kısırlılığının çoğu vakasından sorumlu olup şiddetli oligozoospermi ile ilişkilendirilir. Ayrıca değişken testis patolojisi ile de ilişkilendirilir. DAZ'ın insan spermatogenezine fonksiyonel katkısını belirlemek için daha önce bir DAZ gen kopyasına özgü silme analizi yapılmış ve DAZ1/DAZ2 silinmelerinin oligozoospermi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(53).

Y kromozom mikrolelesyonu saptanmış bireylerin kendi aralarında yaklaşık dağılımları; AZFa(%3), AZFb(%9), AZFc(%79), AZFb+c(%6), ve AZFa+b+c(%3) şeklindedir(35). AZFc bölgesindeki mikrolelesyonlar, en sık görülen delesyonlardır. Testiste azospermi ya da şiddetli oligozoospermiye sebep olur. AZFa bölgesindeki delesyonlar genellikle Sertoli Cell-Only Sendromu ile ilişkilidir. AZFb ve AZFb+c bölgelerindeki tam delesyon tipleri spermatogenetik arrestle karakterizedir ve bu vakalarda Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE) sperm elde edilemez (şekil 6). Bu delesyonlardan muzdarip kişilerin %65-70'i kadarında semenden ya da testisten sperm eldesi yapılabilir. Azoospermili ya da şiddetli oligozoospermik vakalarda ICSI planlanından önce Y kromozom uzun(q) kol mikrolelesyonları için tarama önerilmektedir. Çünkü AZFa yada AZFb lokuslarındaki tam delesyon ve AZFb+c lokusunda delesyonu olan vakalarda Testiküler Sperm Ekstraksiyonu(TESE) uygulamaları önerilmez(8,12,40,50–52,54,55).



Şekil 6. AZF mikrolelesyonlarının semen fenotipi ve TESE sonuçları(13).

3.2.2.2. Tek Genden Kaynaklı Ve Doğrudan Spermin İşlevini Etkileyen Otozomal Kromozom Mutasyonları

Cinsiyet kromozomları üzerinde olmamasına rağmen bazen otozomal kromozomdaki genlerde spermatogenez veya cinsiyet farklılaşmasına doğrudan etki ederek erkek infertilitesine neden olabilir. Bunlardan en çok bilineni kistik fibrozis sendromudur.

Kistik Fibrozis

Kistik fibrozis, CFTR (kistik fibrozis transmembran regülatör) genindeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Bu mutasyonlar, CFTR proteininde hatalı senteze yol açarak klor iyonlarının epitelyum hücrelerinden doğru şekilde taşınmasını engeller. Bu durum, vücut sıvılarının viskozitesinin artmasına ve salgı bezlerinin kanallarının tıkanmasına neden olur. Kistik fibrozisli hastaların %95 inden fazlasında azospermiye neden olan vas deferens'in konjenital iki taraflı yokluğu (CBAVD) bulunur. CBAVD, erkek kısırlığının oldukça sık görülen bir nedenidir. Bu durum erkek kısırlığı vakalarının yaklaşık %1-2'sini oluştururken ve obstrüktif azospermi

vakalarının ise en az %6'sını oluşturur. Bu durum, vas deferensin doğuştan olmaması veya gelişmemesi nedeniyle sperm taşınmasını engeller, bu da kısırlığa yol açabilir(56,57). Seminal veziküller normal miktarda sıvı salgılamadığından ejakülat da çok daha düşük bir hacimdedir ve asidiktir(58).

Orak Hücre Anemisi

Lokus 11p15 de meydana gelen tek gen mutasyonu (SNP) sonucu oluşur. Bir kan hastalığıdır. Kadın ve erkekte kısırlığa neden olur(59–62). Bu hastalıktan muzdarip erkeklerin %24 e kadarında testesteron düşüklüğü ve erkek kısırlığı görülür.(61) Ayrıca hastalığa sahip kişilerin kullandığı kemoterapik ilaç olan hidroksiüreninde kısırlığa neden olduğunu belirten çalışmalar vardır(60).

Genetik Endokrinopatiler

Endokrin sistem üzerinde etkili olan tek gen mutasyonları da erkek infertilitesine neden olabilir. GnRH'nin üretimindeki aksaklıkları, Prader-Willi sendromu, LH ve FSH fonksiyonundaki defektler ve Anderojen Sentez bozuklukları buna örnek verilebilir (18,25,30,32–35).

3.3. Azospermi Ve Oligospermi

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO), 2010'da yayımladığı verilere göre “normal şartlarda bir insan sperm testinde” spermelerin total sayısı örnekte 39 milyon (mililitrede 15 milyon), ileri doğru hareketliliği %32, pH'ı >7,2; hacmi >2 ml, normal şekilli sperm oranı (morfoloji) %4'ten büyük olmalıdır.(9)

Çevresel veya genetik nedenlerden dolayı menideki sperm sayısı WHO'nın standartlarından farklı olması bir tanı aracı olarak kullanılır. Sadece sperm sayısı değil aynı zamanda sperm morfolojisi de parametre olarak kullanılır. Sayı ve morfolojideki değişiklikler gebelik şansını azaltabilir ve hiç spermin olmaması durumunda normal bir gebeliği engeldir.

Sperm parametreleri normal olsa bile gebeliğin gerçekleşememe ihtimalide söz konusudur. Tüm erkek üreme organı sürecinin dışında spermlerin kapasitasyon denilen bir 7-8 saatlik dönemden daha geçmesi gereklidir.(63)

Kapasitasyon bir nevi olgunlaşma ve fertilizasyon için, döllenmeden önceki son hazırlık evresidir. Kapasitasyonun başlangıç noktası bilinmese de en hızlı zamanının uterusu olduğu zamanıdır ve kapasitasyon için spermatozoanın seminal sıvıdan uzaklaşması gereklidir.(63–65). Çünkü seminal sıvıda dekapasitasyon faktörleri bulunur.

Sperm kapasitasyonu, spermin yumurta zarına penetre etmesini sağlayan proteolitik enzimlerin salınımı, akrozom reaksiyonu için bir ön koşuldur. Kapasitasyon, spermatozoanın seminal sıvı içermemesi koşuluyla onları yeterli durumda tutan herhangi bir ortamda inkübe edilmesiyle başlatılabilir.

Tablo 2. Sperm Referans Değerleri(9)

Parametreler	Anormali	Düşük değer	Normal değer	Yüksek değer
Semen hacmi (mL)	<1,5:Hipospermi	1,5	3,7	6,8
Sperm konsantrasyonu (10 ⁶ /mL)	0:Azospermi <15:Oligospermi	15	73	213
Total hareketlilik(%)	<40:Astenosperm i	40	61	78
İleri hareketlilik(%)	<32:Astenosperm i	32	55	72
canlılık(%)	<58: Nekrospermi	58	79	91
Normal form(%)	<4: Teratospermi	4	15	44

3.4. Kromozomal polimorfizimler(heterokromatin varyantlar) ve infertilite

Kromozomal heteromorfizmler uzun zamandır bilinen bir bilgidir(66). Heterokromatin uzunluğundaki veya insan kromozom yapılarındaki farklılıklar heterokromatin varyantlar olarak bilinirler ve kromozom bantlama tekniği sitogenetik inceleme yaygın görülen bulgulardır(67). Genel popülasyonda 1, 9, 16, ve Y kromozomu varyantları sık bulgular arasındadır. Yapılan sitogenetik çalışmalarda genel popülsaydonda %2-%5 arasında görüldüğü bilinmektedir(68).

Hem erkek hem kadın infertilitesinde heterokromatin varyantlarının görülme sıklıkları artar(68–70).

4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

4.1. Çalışma Popülasyonu

Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji-Genetik laboratuvarına 01.01.2021-31.12.2023 tarihleri arasında Azospermi ve oligospermi ön tanısı ile gelen infertil bireylerden oluşmaktadır. Çalışmaya konu edilen hasta grubu üroloji kliniğinden gelen, spermiyogram testi yapılmış, spermiyogram testinin neticesinde azospermi veya oligospermi tanısı almış vakalardır. İnfertil bireylerden Sitogenetik inceleme ve Real-time PCR'la Y-mikrodelesyon inceleme için periferik venözden kan numuneleri alındı.

Çalışma popülasyonu azospermi veya oligospermi tanısı almış 550 infertil erkek bireyleri kapsamaktadır. Öncelik olarak her birey için ayrı pedigriler yapıldı. Pedigri bilgilerinde vakaların yaş, alkol ya da ilaç kullanımı, eğer kullanıyorsa bunların sıklıkta kullanıldığı ve varsa kronik rahatsızlıklarına yer verildi.

Çalışmamızda 550 infertil bireyin tamamına Y-mikrodelesyon analizi, 421 vakada ise sitogenetik analizi çalışması yapıldı.

Sitogenetik İnceleme İçin Kullanılan Kimyasallar

- 1) Penisilin-Streptomisin
- 2) Fetal Calf Serum
- 3) Fitohemaglutinin
- 4) Colcemid 10µg/ml
- 5) L-Glutamin 10ml
- 6) KCL-Potasyum
- 7) Glacial Asetik Asit (sigma)
- 8) Methanol
- 9) Nutrient Mixture F-10 Ham
- 10) Gimsa boya

- 11) Heparin
- 12) Distile su
- 13) Pankreatin
- 14) Etil alkol
- 15) Serum fizyolojik

4.2. Sitogenetik İnceleme İçin Kullanılan Solüsyonlar

Hipotonik solüsyonu: 100 ml distile su + 5.6 gr KCL (0.075 M KCL)

Cornoy fiksatif: 3 birim methanol + 1 birim acetic acid glacial

Fitohemaglutinin solüsyonu: 5 mg Phytohaemaglutinin M + 5 ml bidistile water

Söransan tamponu:

- 1.88 gr. Na₂HPO₄ + 1000 ml distile su (A)
- 9.08 gr. KH₂PO₄ + 1000 ml distile su (B)
- A ve B solüsyonları Karıştırılarak PH = 6.8'e ayarlanır

Trypsin solüsyonu: 50-100 mg Trypsin + 100 ml serum fizyolojik (37°C)

Pankreatin solüsyonu: 50-100 mg Pancreatin + 100 ml serum fizyolojik(37°C)

Boya solüsyonları:

G Bantlama: 95 ml Söransan tamponu + 5 ml Giemsa Lösing

Düz Boya: 95 ml distile su + 5 ml Giemsa Lösing

4.3. Sitogenetik inceleme için Periferik Kanda Kullanılan Kültür Ortamı İçeriği

Nutrient Mixture F-10 Ham	100 ml
Phytohaemaglutinin M solüsyonu	1.5 ml

L-Glutamine	1 ml
Penisilin-Streptomisin	1 ml
Fetal Calf Serum	20 ml

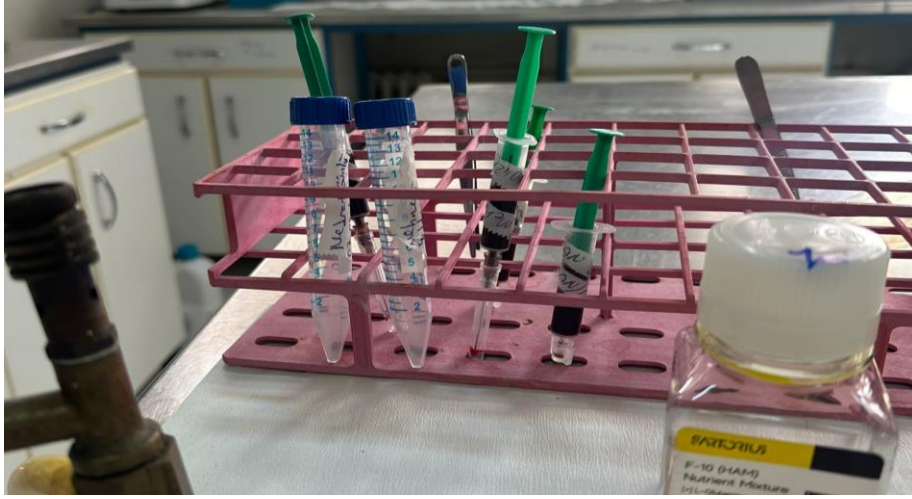
4.4. Sitogenetik İnceleme İçin Kullanılan Aletler

- 1) Etüv
- 2) Distile su cihazı
- 3) Hassas elektronik terazi
- 4) Kuru hava stelizatörü
- 5) Farklı boyutlarda enjektör ve pipetler
- 6) Işık mikroskopu
- 7) Dikey cam şale
- 8) Mezür
- 9) Vortex cihazı
- 10) pH metre cihazı
- 11) Mikropipet
- 12) Buzdolabı
- 13) Lam ve lamel
- 14) Santrifüj cihazı

4.5. Kromozom eldesi boya ve bant işlemi

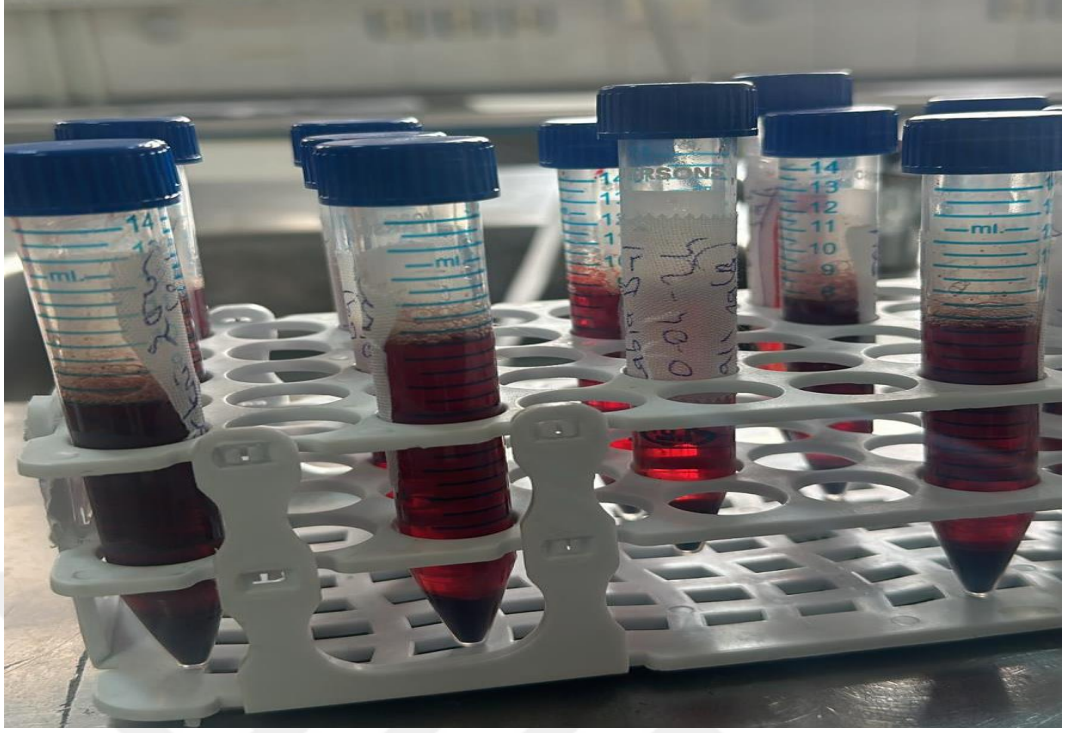
Çalışmamızda periferik venöz kandan lenfosit kültür tekniği ile kromozomlar elde edilmiştir.

1. Hastalardan heparinli enjektör aracılığı ile 4-5 ml kadar kan alındı.
2. Hastanın adı soyadı falkon tüpe yazıldı.
3. Sıvı kültür besiyeri yerinden falkon tüplere 5 ml aktarıldı.



Şekil 7. Besiyeri için hazırlanan falcon tüpler ve kan örneği bulunan heparinli enjektörler.

4. Hastadan alınan kan örneğinden yaklaşık 0,25 mL kadar tüplere 5-6 damla eklenerek, inkübasyon için 72 saat boyunca 37 derecede etüvde bırakıldı.
5. 72 saatlik inkübasyon süresinin son 45 dakikası kala falcon tüpleri etüvden çıkarılarak içlerine 2 damla colcemid eklenip tekrar etüve bırakıldı; 72 saatlik sürenin sonunda çıkarıldılar.
6. Etüvden çıkarılan falcon tüpler iyice vortekslenip, 1200 rpm hızında 10 dakika boyunca santrifüj edildi.
7. Santrifüjden sonra üst kısımdaki süpernatant pipetlerle atıldı; falcon tüpünde kalan pellet kısım vortekslenip üzerine yaklaşık 10 ml (yaklaşık 20 damla) hipotonik solüsyon eklenerek 10 dakika boyunca etüvde bırakıldı.



Şekil 8. Kolsemid damlatıldıktan sonra 45 dk etüvde 37c bekleldikten sonra 10 dk santrifüj edildikten sonraki hali



Şekil 9. Süpernatant kısmı atılıp pelet bırakılıyor



Şekil 10. 20 damla hipotonik eklenip vortexleniyor

8. Falcon tüpü, 1200 rpm hızında 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı pipet yardımıyla dikkatlice alındı ve vorteksleme sırasında üstüne 10 ml fiksatif eklenerek karıştırıldı.
9. Fiksatif ile birkaç kez daha yıkama işlemi tekrarlandı.
10. Son santrifüj işleminden sonra falcon tüplerin içinde 0.5-1 cc pelet bırakıldı.
11. Alt kısımdaki pelet, pipet yardımıyla karıştırıldı ve önceden hastanın adının yazıldığı 3 adet lama üzerine yaklaşık 25-30 cm yükseklikten damla damla yayıldı.
12. Preparatlar, buhar banyosunda kurumaya bırakıldıktan sonra 3 gün boyunca etüvde yaşlanmaya alındı.
13. Üçüncü günün sonunda, preparatlar pankreatin çözeltisi bulunan şalelere 30-60 saniye bekletilip çıkarıldı.

14. Ardından preparatlar, içerisinde distile su bulunan şalelere batırılıp çıkarıldı.
15. Sonrasında Giemsa boyası bulunan şalelere bırakılan preparatlar, 4-5 dakika boyunca boyamaya alındı.
16. Boyamadan çıkarılan lam preparatlar, iki kez daha distile suya batırılıp çıkarıldı.
17. Tüm bu işlemlerden sonra temizlenen lam preparatlar, kromozom analizi için mikroskop altında incelenmeye hazır hale getirildi ve sonuç olarak karyotip oluşturuldu.

4.6. Y-Mikrodelesyon Analizi İçin DNA İzolasyonu

Y-kromozomu üzerindeki mikrodelesyonları SNP Biyoteknolojiye ait Y KROMOZOM MİKRODELESYON REAL TIME PCR KİTİ (8 BÖLGE) (Kat. No: 15R-10-08) kullanıldı.

1. EDTA'lı tüplerdeki kan, 50 ml'lik falcon tüplere aktarıldı.
2. Falcon tüplerin üstüne Reaktif A eklenerek hacimleri 35-40 cc'ye ulaşana kadar dolduruldu.
3. Tüpler, 2 dakika boyunca elle karıştırıldı.
4. 3000 rpm hızında ve +4 °C sıcaklıkta 10 dakika süreyle santrifüj edildi.
5. Santrifüj sonrası falcon tüplerdeki pellete zarar vermeden süpernatant kısmı, içerisinde çamaşır suyu bulunan bir behere aktarıldı.
6. Kalan kısma 2 ml Reaktif B eklenerek pipetleme yapıldı.
7. Her bir hastanın tüpü, 15 ml'lik falcon tüplere aktarıldı.
8. Tüplerin üstüne 500 µl Sodyum Perklorat eklendi.
9. Tüpler, oda sıcaklığında 15 dakika boyunca roller mix'te karıştırıldı.

10. İçeriği karışan tüpler, daha önceden 65 °C'ye ayarlanmış benmaride 30 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
11. Benmariden çıkarılan her tüpe 2 ml kadar kloroform eklendi.
- 12.10 dakika boyunca rollermix'te karıştırıldı.
13. 1400 rpm hızında ve 15°C-20°C sıcaklıkta 10 dakika süreyle santrifüj edildi.
14. Santrifüj sonrası üstte kalan DNA içeren berrak faz, pastör pipetiyle başka bir tüpe aktarıldı.
15. Tüplerin üstüne, 4°C'de muhafaza edilen 2 ml etanol eklendi ve hafifçe elle alt üst edildi.
16. Plastik özeyle tüp içerisindeki DNA'lar hafif dairesel hareketlerle toplandı.
17. 1,5 ml'lik eppendorf tüpe, ucunda DNA bulunan öze tersten bırakılarak 3 dakika bekletilerek kuruması sağlandı.
18. Üzerinde DNA bulunan öze, ucundan kesilerek eppendorf tüpün içine bırakıldı ve üstüne 200 ml distile su eklendi.



Şekil 11. RT-PCR için kullanılan gereçler.

4.7. Preperatların değerlendirilmesi ve karyotip işlemleri

Kromozom eldesi işlemlerinden sonra metafazlar ışık mikroskobu ile 20-40 tane bakılarak fotoğraflandı veya sitogenetik incelemeler için Otomatik Metafaz Bulucu Sistem olan Argenit kullanıldı.

Elde edilen metafazlar paris kongresinde idiyogramları belirlenen ISCN de yayınlanan kriterlere göre dizilip karyotipler hazırlanmıştır.

4.8. RT-PCR İle Y-mikrodelesyon analizi

Y-kromozomu üzerindeki mikrodelesyonları SNP Biyoteknolojiye ait Y KROMOZOM MİKRODELESYON REAL TIME PCR KİTİ (8 BÖLGE) (Kat. No: 15R-10-08) kullanıldı.

Y kromozomundaki AZF-a AZF-b AZF-c bölgesindeki mikrodelesyonları incelemek amacıyla RT-PCR'a uygun paneller hazırlanmıştır.

Kontrol olarak SRY ve ZFY kullanılmıştır.

Sonuçlar Qiagen rotor gene Q ile analiz edilmiştir.

Testin prensibi, Taq DNA polimerazın 5'-3' ekzonükleaz aktivitesine dayanır. Probun 5' ucunda bir reporter boya ve 3' ucunda bir quencher boya bulunur. Quencher boya, reporter boyanın ışınmasını bastırır ve aynı zamanda probun primer gibi davranarak uzamasını engeller. PCR sırasında enzim aktivitesiyle birlikte reporter ve quencher arasındaki prob parçalanarak ayrılır, bastırılma ortadan kalkar ve ışınma meydana gelir. Bu işlem, sadece hedef bölge üzerinde hibridize olan problarda gerçekleşir. Amplifikasyon miktarı arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışınma doğrusal olarak artar ve bu artış cihaz tarafından eş zamanlı olarak tespit edilir.

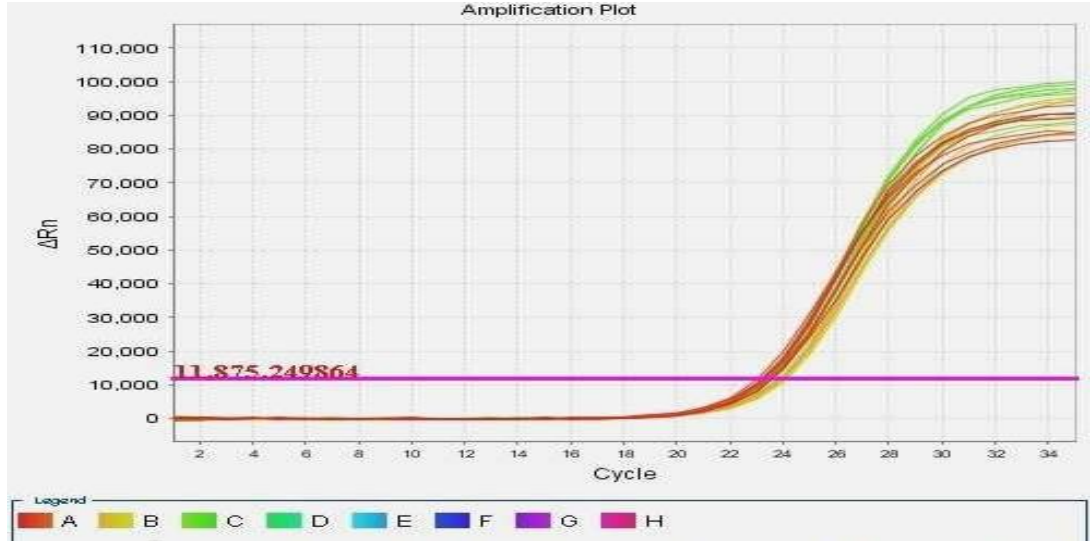
Tablo 3. RT-PCR döngüleri

95 °C	3 dakika	Taq Aktivasyonu
95 °C	15 saniye	30 Döngü
60 °C	1 dakika	

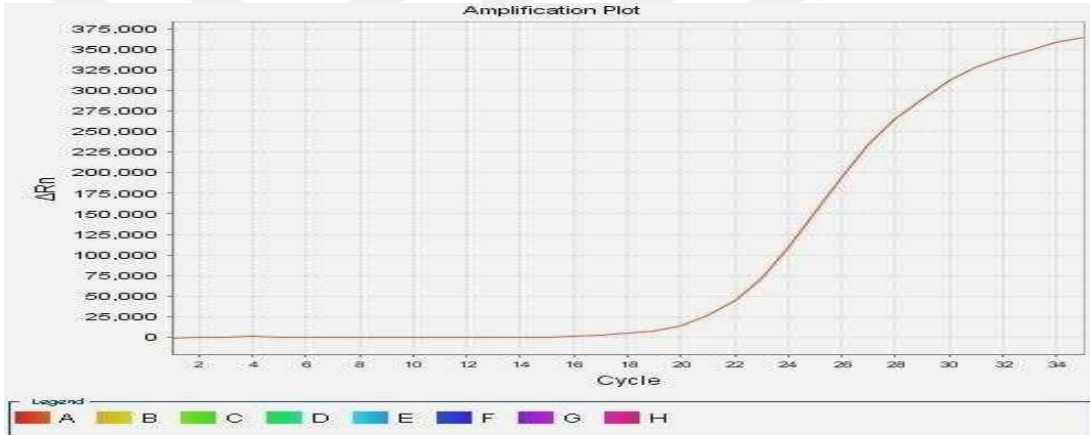
Her tüpte HEX/JOE boyası ile işaretli internal kontrol ile PCR reaksiyonun çalışmasını kontrol eder.

Tablo 4. Kullanılan kitlerin içeriği

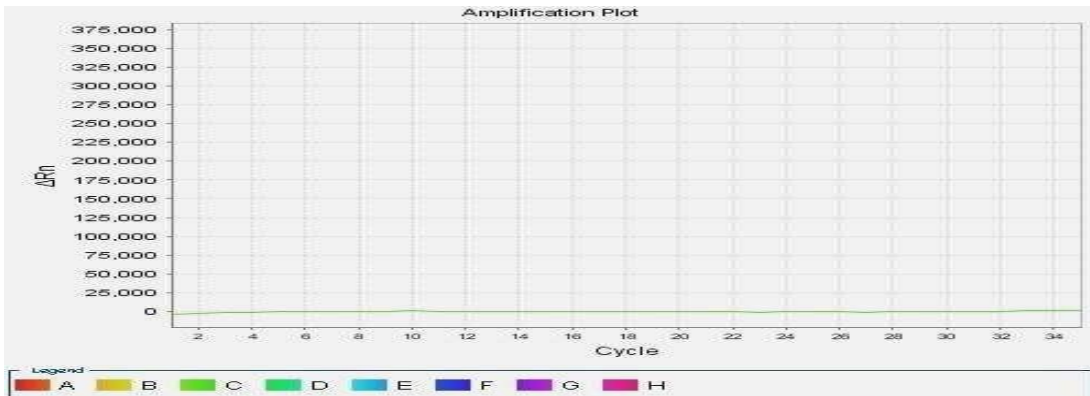
Bileşen	10 Test
ZFY (Kontrol) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY14 (Kontrol) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY84 (AZF-a) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY86 (AZF-a) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY127 (AZF-b) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY134 (AZF-b) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY254 (AZF-c/DAZ) Real Time PCR Master Miks	200 µl
SY255 (AZF-c/DAZ) Real Time PCR Master Miks	200 µl
Normal Erkek Kontrol DNA	80 µl
Delesyo Pozitif Kontrol DNA	80 µl



Şekil 12. İnternal kontrol piklerinin görüntüsü.



Şekil 13. AZF bölgesi, pik var ilgili bölgede delesyon yok (fam boyası).



Şekil 14. AZF bölgesi, pik yok ilgili bölgede delesyon var (fam boyası)

Tablo 5. Kullanılan RT-PCR primerlerine ait bilgiler

Primer adı	Primer dizisi		bölge
	İleri(sol)	Geri(sağ)	
sY84	5' AGA AGG GTC TGA AAG CAG GT-3'	5' GCC TAC TAC CTG GAG GCT TC-3'	AZFa
sY86	5'- GTT ACA AAG AAA TCC CAA AGA C -3'	5'- ACA CAC AGA GGG ACA ACC CT -3'	AZFa
sY127	5' GGC TCA CAA ACG AAA AGA AA-3'	5 'CTG CAG GCA GTA ATA AGG GA-3'	AZFb
sY134	5'-GTC TGC CTC ACC ATA AAA CG-3'	5'-ACC ACT GCC AAA ACT TTC AA-3'	AZFb
sY254	5' GGG TGT TAC CAG AAG GCA AA-3'	5'GAA CCG TAT CTA CCA AAG CAG C-3'	AZFc/DAZ
sY255	5' GTT ACA GGA TTC GGC GTG AT-3'	5' CTC GTC ATG TGC AGC CAC-3'	AZFc/DAZ
sY14	5'- GTT ACA AAG AAA TCC CAA AGA C -3'	5'-GCT GGT GCT CCA TTC TTG AG-3'	SRY
ZFY	5'-ACC RCT GTA CTG ACT GTG ATT ACA C-3'	5'-GCA CYT CTT TGG TAT CYG AGA AAG T-3'	ZFX/ZFY

5. BULGULAR

Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Tıbbi Biyoloji- Genetik laboratuvarına 01.01.2021-31.12.2023 tarihleri arasında azospermi ve oligospermi ön tanısı ile gelen 550 infertil bireyi kapsadı. Çalışmaya konu edilen infertil erkek popülasyonu Diyarbakır il, ilçe ve çevre illerde (Güneydoğu Anadolu Bölgesi) yaşayan bireylerdi. 550 idiyopatik infertil erkek bireyin tamamına RT-PCR ile Y-mikrodelesyon bakıldı. 550 idiyopatik infertil erkek bireyden 421 (%76,5)'inde sitogenetik inceleme yapıldı. 550 hastanın 410'u azospermi, 140'ı oligospermi tanılıydı.

5.1. Sitogenetik ve moleküler bulgular

Çalışmamızda 550 idiyopatik infertil erkek bireyin 27(%4,9)'sinde Y-mikrodelesyonu görüldü.

Bu çalışmamızda 421 vakada sitogenetik incelemeler yapıldı. Vakaların 172(%40,8)'sinde kromozomal anomali tespit edildi(kromozom polimorfizmleri dahil). 172 kromozomal anomalisi olan vakadan 38(%9)'i oligospermi 134(%31,8)'i azospermiktir. 249(%59,2) hastada kromozomal bir anomali saptanmadı. 172 kromozomal anomaliden 114(%27,07) hastada yapısal kromozomal anomali, 58(%13,75) hastada sayısal kromozomal anomali ve 8(%1,9) hastada hem sayısal hemde yapısal kromozomal anomali görüldü.

Kromozomal polimorfizmler başka bir deyişle heterokromatin varyantlar 100(%23,75) hastada görüldü. Kromozomal polimorfizmler hariç tutulduğunda 14(%3,33) hastada yapısal kromozomal anomali saptandı, bunlardan 3'ü oligospermi vakasıydı, 58(%13,77) hastada ise sayısal anomali tespit edilmiştir. Oligospermi vakaların hiçbirinde sayısal kromozomal anomali görülmedi. Toplamda 72(%17,1) hastada sitogenetik incelemede anomali görüldü.

Çalışmamızdaki 421 hastanın sitogenetik incelemesinden 53(%12,5) hastanın klinefelter sendromu saptandı. Klinefelter sendromlu 53 hastadan 4 tanesi mozaikti.

5.2. Karyotip bulguları

Tablo 6. Sayısal kromozomal anomalisi olan infertil bireylerin karyotip dağılımı

N	Karyotip
46	47,XXY
1	mos45,X [21]/46,X,i(Y)(q11) [17]
1	mos46,X,del(Y)(q?)(11)/45,X(14)
1	mos47,XXY[14]/46,XY[2]
1	mos 46,XY (18)/45,X (2)
1	mos47,XXY[27]/46,XY[1]/ 48,XXXY[1]
1	47,XXY,9qh+
2	47,XXY,1qh+,9qh+
1	47,XXY,14ps+
1	mos47,XXY ,9qh+[26] /46,XX,9qh+ [2]/ 46,XY,9qh+[1]
1	mos45,X ,9qh+[26]/46,XY ,9qh+[6]
1	45,XY,t(13;14)
58	Toplam

Sayısal kromozomal anomali görülen 58 olgudan 46'sında 47,XXY(Klinefeleter sendromu) karyotip görüldü. 5 olguda KS ile beraber 9qh+, 1qh+,14ps+ heterokromatin varyantları görüldü. 3 KS olguda mozaik karyotip görüldü.

Tablo 7. Olgularda görülen yapısal kromozomal anomaliler

N	Karyotip
5	46,XY, inv(9)(p13;q13)
1	46,XY,t(4;13)(13qter13q14::4p154qter,13pter13q13::4p164pter)
1	46,XY,del(Y)(pter>q11.22:)
1	46,XY,der(7)(7qter>p22::6p16>qter),del(6)(pter>q22:)
1	45,XY,t(13;14)
1	46,XY,t(1;22),9qh+
1	46,XY,1qh+,inv(9)(p13;q12)
2	46,XY inv(9)(p12;q12)
1	46,XY, inv(9)(p11;q13)
14	<i>Toplam</i>

Kromozomal polimorfizmler başka bir deyişle heterokromatin varyantlar 100(%23,75) hastada görüldü (tablo 8). İnfertil erkek bireylerde heterokromatin varyantlar gözardı edildiğinde yapısal kromozom anomalileri 421 vakadan 14'ünde gözlemlendi (%3,32)(tablo 8). İdiyopatik infertil erkek bireylerde görülen yapısal kromozomal anomalilerde 46,XY,inv(9)(p13;q13) karyotipi en sık görülen anomaliydi(%1.18).

Tablo 8. İnfertil vakalarda kromozomal anomali dağılımı

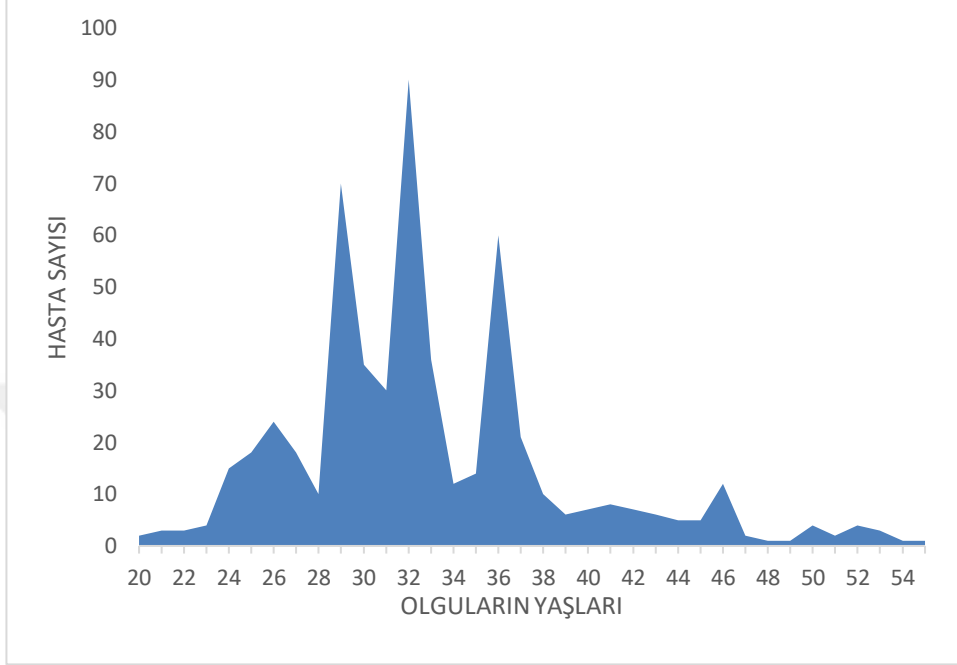
Tanı	Toplam Vaka sayısı	Heterokromatin varyantı	Sayısal kromozomal anomali	Yapısal kromozomal anomli
Azospermi	410	65	58	11
Oligospermi	140	35	0	3

Tablo 9. İnfertil olgularda görülen kromozomal polimorfizmler(heterokromatin varyantlar)

N	Karyotip
36	46,XY,9qh+
24	46,XY,1qh+
3	46,XY,21ps+
3	46,XY,16qh+
3	46,XY,22p+
2	46,XY,15ps+
1	46,XY,14ps+
8	46,X,Y (?) (y normalden küçük)
4	46,xy, yq+
10	46,XY,1qh+,9qh+
3	46,XY,16qh+
1	46,XY,9qh+,16q+
2	46,XY,1qh+,16qh+
100	Toplam

Sitogenetik analizi yapılan 421 idiyopatik infertil erkek bireyde en sık görülen heterokromatin varyantı 36 vakada (%8,55) 46,XY,9qh+ karyotipi. 24(%5,7) vakada ise 46,XY,1qh+ karyotipi gözlemlendi. Gözlemlenen heterokromatin varyantlarının içinde 46,XY,9qh+ karyotipi %36 oranında gözlemlendi.

5.3. İnfertil vakaların yaş dağılımları



Şekil 15. Vakaların yaş dağılımı

Laboratuvarımıza gelen idiyopatik infertil erkeklerin yaş dağılımı şekil 14’teki gibidir. 28-38 yaş arasında daha çok vaka gözlemlenmiştir. Vakalarımızdan en küçüğü 20 yaşında en büyüğüde 55 yaşındadır.

Tablo 10. Vakaların yaş ortalamaları ve infertilite süresi

Kolej	ortalama	minimum	maksimum
İnfertilite süresi	6,3	2	35
yaş	32,9	20	55

5.4. Vakaların hormonal bulguları

Dicle Üniversitesi laboratuvar değerleri normal aralığı LH (IU/L) için 1,5 ile 9,3 değerleridir. FSH(IU/L) için bu aralık 1,4 ile 18,1'dir. 47,XXY klinefelter sendromlu hiçbir bireyin LH ve FSH değeri normal aralıkta gözlemlenmedi. Tüm vakalardan Y-mikrodelesyon pozitif olan 9. Vaka FSH oranı en yüksek infertil bireydi. Vakanın FSH(IU/L): 114,5 iken LH (IU/L): 45,42 düzeyindeydi. Diğer y-mikrodelesyon vakaları FSH ve LH seviyeleri normal aralıktaydı (hem Y-mikrodelesyon hem de 47XXY karyotipi gözlemlenen vakalar hariç).

Tablo 11. 47,XXY vakalarında LH ve FSH değerleri.

Hormon	ortalama	En düşük	En yüksek
LH (IU/L)	21,7	10	43
FSH (IU/L)	38,1	20	70

Tablo 12. LH ve FSH değerleri sıfıra yakın bazı kromozomal anomaliler(birer hastada)

Anomaliler	LH (IU/L)	FSH (IU/L)
45,XY,t(13;14)	0,2	0,3
46,XY,9qh+	0,03	0,5
46,XY inv(9)(p12;q12)	0,1	0,1

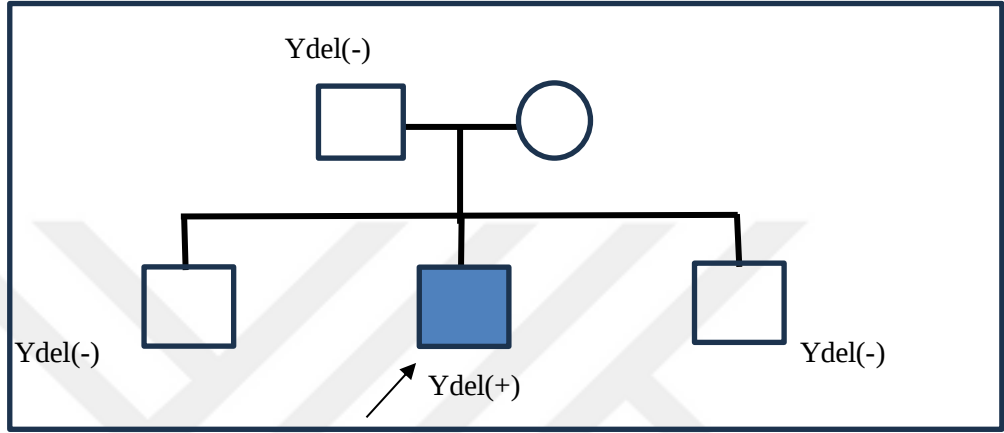
5.5. Y-mikrodelesyon bulguları

Çalışmamızda 550 idiopatik infertil erkek bireyin 27(%4,9)'sinde y mikrodelesyonu görüldü. 523(%95,1) hastada Y-mikrodelesyonları saptanmadı. 10 mikrodelesyonlu hastada kromozomal anomaliler olduğu tespit edildi(tablo 14).

Tablo 13. Y-mikrodelesyon pozitif vakaların mutasyon bölgeleri

Y- mikrodelesyon pozitif vakalar	AZFa		AZFb		AZFc	
	sY84	sY86	sY127	sY134	sY254 (DAZ)	sY255 (DAZ)
1.vaka	-	-	+	+	+	+
2.vaka	-	-	+	-	-	-
3.vaka	+	-	-	-	-	-
4.vaka	+	+	-	-	-	-
5.vaka	+	-	-	-	-	-
6.vaka	+	+	-	-	-	-
7.vaka	-	-	+	-	-	-
8.vaka	+	+	-	-	+	-
9.vaka	-	-	+	-	-	-
10.vaka	-	-	+	-	-	-
11.vaka	+	-	-	-	-	-
12.vaka	-	-	+	+	+	+
13.vaka	-	-	+	+	-	-
14.vaka	-	-	+	+	-	-
15.vaka	+	+	-	-	-	-
16.vaka	-	-	+	+	+	+
17.vaka	-	-	+	+	+	+
18.vaka	-	-	-	-	+	+
19.vaka	-	-	-	-	+	+
20.vaka	-	-	-	-	+	+
21.vaka	+	+	+	+	+	+
22.vaka	-	-	+	+	+	+
23.vaka	-	-	-	-	+	+
24.vaka	+	+	+	+	-	-
25.vaka	+	-	-	-	-	-
26.vaka	-	-	+	+	-	-
27.vaka	+	-	-	-	-	-
Toplam	11	6	14	10	11	10

Y-mikrodelesyon pozitif olan 1. Vakanın (tablo 12) AZFb (sY127,sY134) ve AZFc(sY254,sY255) bölgelerinde delesyon tespit edildi. Vakanın babası ve 2 erkek kardeşine yapılan Y-mikrodelesyon RT-PCR testinde aile fertlerinin aynı delesyonu taşımağı görüldü(şekil 16).



Şekil 16. Denova mutasyon sonucu y-mikrodelesyon pozitif vaka

Oligospermi ön tanılı vakalarda Y-mikrodelesyon saptanmadı. Y-mikrodelesyon 27 vakanın tamamı azospermi ön tanılı hastalardı. Bazı vakalarda hem Y-mikrodelesyonu hemde kromozomal anomali saptandı (tablo 14).

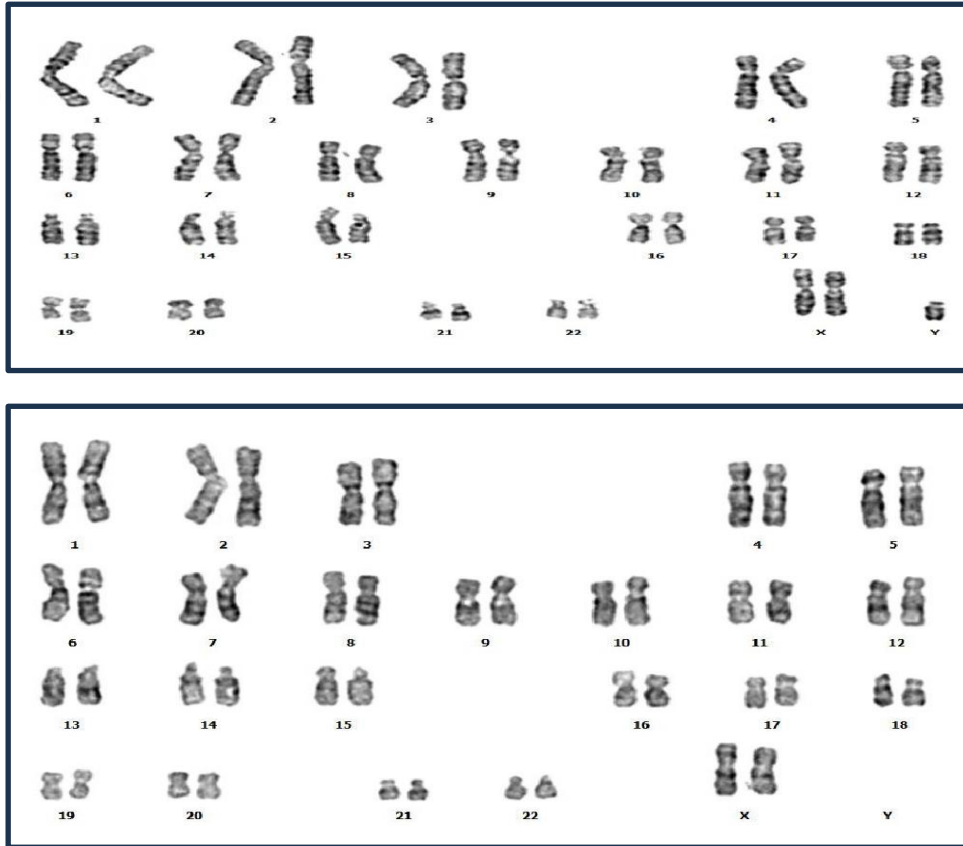
Tablo 14. Y-mikrodelesyon ile beraber kromozomal anomali saptanan vakalar

Y-mikrodelesyon pozitif vakalar	Kromozomal anomaliler
3.Vaka	mos46,X,del(Y)(q?)(11)/45,(14)
5.Vaka	46,XY,9qh+
6.Vaka	46,XY,1qh+,9qh+
7.Vaka	47,XXY
8.Vaka	46,xy, yq+

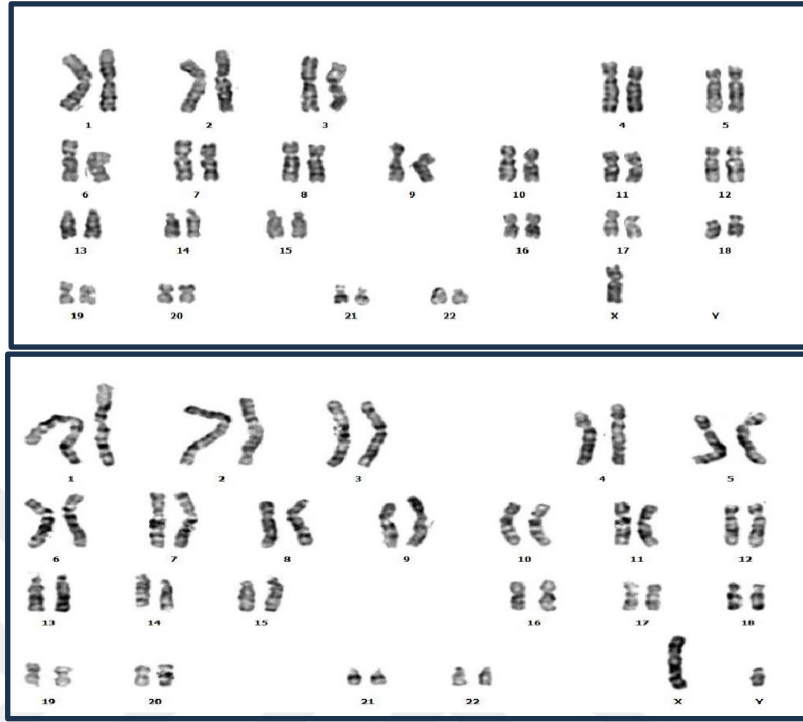
10.Vaka	47,XXY
11.Vaka	mos45,X ,9qh+[26]/46,XY ,9qh+[6]
14.Vaka	46,XY, inv(9)(p13;q13)
17.Vaka	46,XY,del(Y)(pter>q11.22:)
21.Vaka	46,XY,t(1;22),9qh+

Çalışmadaki 5 vakada AZFb+AZFc delesyonu, 1 vakada AZFa+AZFb delesyonu saptandı. 1 vakada da AZFa+AZFb+AZFc delesyonu saptandı. 1 başka vakada (8.vaka) AZFa+AZFc(sadece sY254'te delesyon) saptandı.

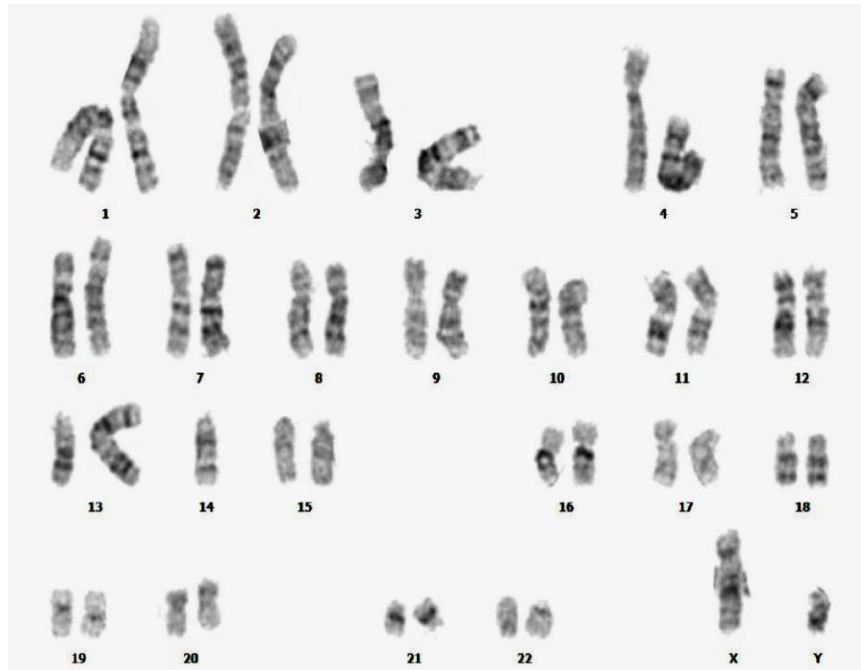
5.6. Vakalara ait bazı karyotipler



Şekil 17. mos47,XXY ,9qh+[26] /46,XX,9qh+ [2]/ 46,XY,9qh+[1](Mozaik Klinefelter sendromu)



Şekil 18. mos45,X ,9qh+[26]/46,XY ,9qh+[6]



Şekil 19. 45,XY,t(13;14)

6. TARTIŞMA

İnfertilite dünyada 70-100 milyon bireyi etkileyen prevelansı oldukça yüksek bir durumdur(71). Evli her 6 çiftten 1'i üreme sorunu yaşamaktadır. İnfertilitenin evli çiftler üzerinde psikolojik sorunlar yaratabildiği ve yaşam kalitesini düşürdüğü bilinmektedir(72). Bu infertilite vakalarının yarısında erkek faktörü etkilidir(71,73,74). Erkek infertilitesinin % 90 sebebi sperm azlığı veya yokluğundan kaynaklanır(75). Buda spermatogenezdeki süreçte yaşanan defektlerden kaynaklanır. Spermatogenez sürecinde germ hücresi gelişiminde rol oynayan Yq üzerinde AZFa, AZFb, AZFc genlerindeki delesyonların erkek infertilitesine neden olduğu çalışmalarca gösterilmiştir.(76–79).

Erkek infertilitesinin nedenleri arasında enfeksiyon, genital yaralanmalar, kistik fibrozis, hormonal defektler ve çevresel faktörler yer alır. Ancak erkek faktörlü infertilitede vakaların %60'ı sitogenetik anomaliler ve Y kromozomu mikrolelesyonlarıdır(75).

Erkek infertilitesi genel erkek popülasyonun yaklaşık %7 sini etkileyen bir patoloji iken %20' sinin sebebi bilinen bir genetik kusura bağlıdır. Vakaların %40 ise idiyopatiktir(80).

Heterokromatin varyantlarının her ne kadar fenotipe etkisi klinik olarak düşünülme de özellikle infertil bireylerde yapılan çalışmalarda heterokromatinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu çoğu çalışmada gösterilmiştir(67,69,70).

Antonín ve arkadaşlarının yaptığı heterokromatin varyantları ile ilgili çalışmasında 1036 üreme sorunu yaşayan vakanın 995 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı($P = 0.006$) heterokromatin varyantı artışı bulmuştur ancak bu olgunun nedeni bilinmemektedir(67).

Şahin ve arkadaşlarının 275 infertil çift ve genel popülasyon sayılabilecek 1130 fetüs kontrol grubu ile yaptığı çalışmada infertil hastalarda %6.52 ve kontrol grubunda %1,77 heterokromatin varyantı saptamışlardır ve istastiksel olarak anlamlı bir gözlemlenmiştir($p < 0,0001$)(81).

Schoor ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada nonobstüriktif azospermi vakalarının

%89'nun FSH değerinin 7,6 mIU/ml'nin üzerinde olduğunu gözlemlemişlerdir(82). Bizim alışamızda idiyopatik 421 infertil erkek bireyden 47,XXY klinefelter olduğu saptanan bireylerde ortalama 38,1 IU/L FSH düzeyinde gözlemlendi. Hiçbir klinefelter sendromlu infertil bireyin LH ve FSH düzeyleri normal aralıkta değildi. Dicle üniversitesi laboratuvarında normal referans değerleri LH (IU/L) için 1,5 ile 9,3 aralığındadır. FSH(IU/L) için bu aralık 1,4 ile 18,1'dir. FSH ve LH değerleri sıfıra yakın olan 45,XY,t(13;14), 46,XY,9qh+, 46,XY inv(9)(p12;q12) üç infertil vakamız dışında diğer bireylerde anlamlı bir fark gözlemleyemedik.

Hofherr ve arkadaşlarının geniş bir popölasyona yaptığı çalışmada kısırlık sebebiyle gelen 18 yaşından büyük erkeklerde yaptığı 2242 kromozom çalışmasında infertil erkek bireylerde %14,3 karyotip anomalisi saptanmış ve 2749 infertil bireyde %3,6 Y-mikrodelesyonu saptanmıştır(83). alışmasında 258 birey 47,XXY, 9 birey 47,XXY 7 birey 46,XX erkek karyotip anomalisine sahipti. %3,6 Y-mikrodelesyonu olan infertil bireylerin %90'ı delesyonu AZFc bölgesindeydi(83).

Stahl ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada spermiyogramı 5 milyon sperm/mL olan azospermi ve oligospermi 1591 infertil bireyde 149(%9,4) y-mikrodelesyon rapor etmişlerdir. Çalışmada azospermili erkeklerde saptanan mikrodelesyonların 3/2 sinin AZFa, AZFb, AZFb+c veya AZFa+b+c olduğunu oligospermik erkeklerde ise tamamının AZFc olduğu bildirilmiştir. Çalışmada 718 hastaya mikrodisseksiyon TESE uygulanmış ve AZFa, AZFb, AZFb+c veya AZFa+b+c mikrodelesyonları bulunan hastaların tamamında TESE başarısız olmuştur.AZFc mikrodelesyonu olan 21 hastadan 15'inde TESE'nin başarılı olduğu bildirilmiştir(84).

İnfertil bireylerde yapılan sitogenetik çalışmalarda kromozomal anomaliler infertil bireylerde görölme sıklığının %9 ile %25 aralığından olduğu farklı çalışmalarca bildirilmiştir(83,85–91) . Heterokromatin varyantının infertil erkek bireylerde yaklaşık %23 olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur(70). Bizim alışmamızda heterokromatin varyantı 421 infertil bireyden 100(%23,75) bireyde saptanmıştır. Bu bağlamda literatürle uyumlu olup genel popölasyonda heterokromatin varyantı olan %2-%5 aralığından oldukça yüksektir(68). Sitogenetik açıdan analizini yaptığımız 421 idiyopatik infertil erkek bireyde en sık heterokromatin varyantı 36

vakada (%8,55) 46,XY,9qh+ karyotipi olarak görüldü. 24(%5,7) vakada 46,XY,1qh+ karyotipi gözlemlendi. Gözlemlenen heterokromatin varyantlarının içinde 46,XY,9qh+ karyotipi %36 oranında gözlemlendi.

Çalışmamızda kromozomal anomaliler açısından 14(%3,33) hastada yapısal kromozomal anomali saptandı, bunlardan 3'ü oligospermi vakasıydı, 58(%13,77) hastada ise sayısal anomali tespit edildi. Oligospermi vakaların hiçbirinde sayısal kromozomal anomali görülmedi. Toplamda 72(%17,1) hastada sitogenetik incelemede anomali görüldü. Çalışmamızda 72(%17,1) bireyde saptadığımız karyotip anomalisi ile %9-%25 aralığında olan literatürdeki diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür(83,89,90,92–94).

Çalışmamızda sayısal kromozomal anomalisi görülen 58 vakadan 46'sında 47,XXY(Klinefeleter sendromu) karyotipi tespit edildi. 5 olguda KS ile beraber 9qh+, 1qh+,14ps+ heterokromatin varyantları görüldü. 3 KS olgusunda mozaik karyotip görüldü. Çalışmamızdaki vakalardan 10(%1,8) infertil bireyde hem kromozomal anomali hemde y-mikrodelesyonu saptadık.

Literatördeki çalışmalarda Y-mikrodelesyon bulguları infertil vakalarda %1 ile %12 aralığında olduğu bildirilmiştir(77,83,84,86,86,89–91,93–95). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak idiyopatik 550 infertil erkek bireyin 27(%4,9)'sinde Y-mikrodelesyonu saptandı. 5 vakada AZFb+c delesyonu, 1 vakada AZFa+b delesyonu, 1 vakada AZFa+c, 1 vakada AZFa+b+c delesyonu saptandı. Çalışmamızda 27 y-mikrodelesyonu pozitif hastadan en az görülen delesyon 6(%1,09) vakada AZFa(sY86)'ydi. En çok görülen delesyon 14(%2,54) vakada AZFb(sY127)'ydi. Vakalardan 4'ünde sadece AZFc delesyonu, 8'sinde sadece AZFa ve 7'sinde sadece AZFb delesyonu vardı.

7.SONUÇ

Çalışmamızda Diyarbakır ili ve çevre illerden gelen azospermi ve oligospermi tanısı almış idiyopatik infertil vakalarda sitogenetik ve Y-mikrodelesyonu genetik incelemelerini araştırmayı amaçlamıştır. Çalışmamızda toplamda 550 erkek hasta üzerinde yapılan genetik analizler sonucunda 27 Y-mikrodelesyonu ve sitogenetik analizi yapılan 421 idiyopatik infertil erkek bireyde 72 kromozomal anomali içeren bulgu tespit edilmiştir.

Y-mikrodelesyonlarının ve kromozomal anomalilerin bu vakalardaki prevalansının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu, bölgedeki infertilite vakalarının genetik temellerinin anlaşılmasında ve tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde önemli bir adımdır.

Bu sonuçlar, klinik uygulamalarda genetik testlerin daha yaygın kullanımını ve bu testlerin infertilite değerlendirmeleri için standart bir uygulama haline getirilmesini teşvik etmektedir. Y-mikrodelesyonlarının erkek infertilitesindeki rolü, daha iyi bir danışmanlık ve tedavi olanağı sunabilir.

Hastaların genetik sonuçlarla doğru ve hızlı tedavi yöntemlerini tercih etmeleri Özellikle Y-mikrodelesyonlarının dikey kalıtımı hakkında genetik danışmanlık almaları desteklenmelidir.

Erkek infertilitesi ile ilgili daha fazla araştırma yapılması, daha iyi klinik verileri sağlamak için dikkatli bir seçimle protokolün genişletilmesi ve lokalize bölgelerin ötesinde lokusları belirlemek için primer aralığının genişletilmesinin, infertil bireylerde mikrodelesyon prevalansının ortaya çıkarılmasında verimin arttırılmasına inanılmaktadır.

Sitogenetik ve Y-mikrodelesyonu genetik analizlerin sonucunda infertil hastalarda yapılan tespitler, erken tanı ve tedavi ile olguların hayat standartlarını yükseltecektir. Bu nedenle hastaların mümkün olan en kısa sürede genetik test yaptırmaya teşvik edilmesi çok önemlidir. Genetik analiz, kısırlıkla mücadele eden bireylerde klinik tanının doğrulanması için değerli bir araçtır. Genetik analizler infertil

bireyde klinik tanıyı doğrulamak için en yararlı yaklaşımlardan biridir. Bu çalışmada infertil bireylerin genel popülasyondan daha yüksek oranda kromozomal anomali ve Y-mikrodelesyonu olduğunu saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler Diyarbakır ili ve çevresindeki illerde genetik bir veri kütüphanesi oluşturmak ve literatüre katkı sağlamak için önemli bir kaynak olabileceği kanısındayız.



8. KAYNAKLAR

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015; 103(3): s. 18-25.
2. Sharma A, Minhas S, Dhillon WS, Jayasena CN. Male infertility due to testicular disorders. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;106(2): s. 442-59.
3. Cannarella R, Condorelli RA, Mongioi LM, La Vignera S, Calogero AE. Molecular Biology of Spermatogenesis: Novel Targets of Apparently Idiopathic Male Infertility. *Int J Mol Sci*. 2020;21(5):1728.
4. Fainberg J, Kashanian JA. Recent advances in understanding and managing male infertility. *F1000Research*. 2019;8:F1000 Faculty Rev-670.
5. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility. *JAMA*. 2021;326(1):65-76.
6. Chen J, Chen J, Fang Y, Shen Q, Zhao K, Liu C, vd. Microbiology and immune mechanisms associated with male infertility. *Front Immunol*. 2023;14:1139450.
7. Oud MS, Smits RM, Smith HE, Mastroiusta FK, Holt GS, Houston BJ, vd. A de novo paradigm for male infertility. *Nat Commun*. 2022;13:154.
8. Krausz C, Riera-Escamilla A. Genetics of male infertility. *Nat Rev Urol*. 2018;15(6): s. 369-384.
9. World Health Organization. (2010). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. <https://iris.who.int/handle/10665/44261> Erişim Tarihi: 20 Mayıs 2024
10. Gokce A. Dünya Sağlık Örgütü Kriterlerine Göre Standart Semen Analizi. *Türk Urol Sem Hatay 2011*. s. 1-7.
11. Balkan M. İnfertil erkeklerde genetik araştırmalar. D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2006, Diyarbakır (Danışman:Yrd. Doç. Dr. Selahattin TEKEŞ).
12. Vicdan A, Vicdan K, Günel S, Kence A, Akarsu C, Işık AZ, vd. Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y

chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;117(1):49-54.

13. Krausz C, Cioppi F, Riera-Escamilla A. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Review of Molecular Diagnostics.* 2018; s. 331–346.

14. Tournaye H, Krausz C, Oates RD. Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017; 544-553.

15. Witherspoon L, Dergham A, Flannigan R. Y-microdeletions: a review of the genetic basis for this common cause of male infertility. *Transl Androl Urol.* 2021;10(3):1383-90.

16. Aittomäki K, Wennerholm U -B., Bergh C, Selbing A, Hazekamp J, Nygren K -G. Safety issues in assisted reproduction technology: Should ICSI patients have genetic testing before treatment? A practical proposition to help patient information. *Hum Reprod.* 2004;19(3):472-6.

17. Gurung P, Yetiskul E, Jialal I. *Physiology, Male Reproductive System.* İçinde: *StatPearls . StatPearls Publishing;* 2023

18. Rey R, Josso N, Racine C. *Sexual Differentiation.* 1.bs South Dartmouth 2000. s. 25-150 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279001/> Erişim Tarihi: 20 Mayıs 2024.

19. O’Rahilly R. The timing and sequence of events in the development of the human reproductive system during the embryonic period proper. *Anat Embryol (Berl).* 1983;166(2):247-61.

20. Tsili AC, Sofikitis N, Stiliara E, Argyropoulou MI. MRI of testicular malignancies. *Abdom Radiol N Y.* 2019;44(3):1070-82.

21. Wylie KR. *ABC of Sexual Health.* John Wiley & Sons; Chichester, UK 2015, p: 147.

22. Krutzsch PH. 4 - Anatomy, Physiology and Cyclicity of the Male Reproductive Tract. İçinde: Crichton EG, Krutzsch PH, *Reproductive Biology of Bats .* London: Academic Press; 2000, s. 91-155.

23. Clement P, Giuliano F. Anatomy and physiology of genital organs – men. *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier 2015; s. 19-37.

24. Titi-Lartey OA, Khan YS. Embryology, Testicle. *StatPearls.* Treasure Island;

2023; s. 461-465.

25. Aşçı R, Çayan S, Erdemir Fİ. Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi 1. bs. İstanbul; 2013. s. 921

26. Kırıcı Y, Yıldız S Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi: Erkek Üreme sistemi Anatomisi; İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul; 2013, s. 21-28

27. Vas deferens ve erkek üreme sisteminin diğer önemli bileşenlerini gösteren 3 boyutlu tıbbi illüstrasyon. 2020. <https://www.scientificanimations.com>. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:3D_Medical_Animation_Vas_Deferens.jpg Erişim Tarihi: 04 Mayıs 2024

28. Hayward Sw, Cunha Gr. The Prostate: Development And Physiology. Radiol Clin North Am. 2000;38(1):1-14.

29. Garcia RA, Sajjad H. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Scrotum. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2019.

30. Sharma A, Minhas S, Dhillon WS, Jayasena CN. Male infertility due to testicular disorders. J Clin Endocrinol Metab. 2020;106(2): s. 442-59.

31. Nishimura H, L'Hernault SW. Spermatogenesis. Curr Biol. 2017; 27(18): R988-94.

32. Sharma R, Agarwal A. Spermatogenesis: An Overview. New York, NY: Springer New York; 2011; s. 19-44.

33. Neto FTL, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. Semin Cell Dev Biol. 2016;59:10-26.

34. Ferlin A, Arredi B, Foresta C. Genetic causes of male infertility. Reprod Toxicol Elmsford N. 2006;22(2):133-41.

35. Verim L. Erkek İnfertilitesinin Genetik Temeli. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2015;5(10).

36. Visootsak J, Graham JM. Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. Orphanet J Rare Dis. 2006;1:42.

37. Demaliaj E, Cerekja A, Piazze J. Sex chromosome aneuploidies. Aneuploidy Health Dis. Croatia 2012; s. 123-140.

38. Storchova Z. Aneuploidy in Health and Disease. BoD – Books on Demand; 2012. s. 260

39. Tartaglia NR, Wilson R, Miller JS, Rafalko J, Cordeiro L, Davis S, et al.

- Autism Spectrum Disorder in Males with Sex Chromosome Aneuploidy: XXY/Klinefelter Syndrome, XYY, and XXYY. *J Dev Behav Pediatr*. 2017;38(3):197.
40. Cioppi F, Rosta V, Krausz C. Genetics of Azoospermia. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3264.
 41. Gao X, Chen G, Huang J, Bai Q, Zhao N, Shao M, vd. Clinical, cytogenetic, and molecular analysis with 46,XX male sex reversal syndrome: case reports. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30(3):431-5.
 42. Saikia UK, Sarma D, Das DV, Goswami JK, Kaushik, Saikia C, et al. A Case of Mixed Gonadal Dysgenesis: A Diagnostic Challenge. *J Hum Reprod Sci*. 2019;12(2):169.
 43. Hatano M, Fukuzawa R, Hasegawa Y. The Mosaicism Ratio of 45,X May Explain the Phenotype in a Case of Mixed Gonadal Dysgenesis. *Sex Dev*. 2018;12(4):175-9.
 44. Suyama T, Shiraishi T, Zeng Y, Yu W, Parekh N, Vessella RL, Luo J, Getzenberg RH, Kulkarni P. Expression of cancer/testis antigens in prostate cancer is associated with disease progression. *Prostate*. 2010 1;70(16):1778-87.
 45. Thakker S, Persily J, Najari BB. Kallman syndrome and central non-obstructive azoospermia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2020; s. 34-6.
 46. Dodé C, Hardelin JP. Clinical genetics of Kallmann syndrome. *Ann Endocrinol*. 2010;71(3):149-57.
 47. Conn J, Gillam L, Conway GS. Revealing the diagnosis of androgen insensitivity syndrome in adulthood. *BMJ* 2005;331(7517):628-30.
 48. Neto FTL, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;59:10-26.
 49. Wilson Sayres MA, Lohmueller KE, Nielsen R. Natural selection reduced diversity on human y chromosomes. *PLoS Genet*. 2014;10(1):e1004064.
 50. Rhie A, Nurk S, Cechova M, Hoyt SJ, Taylor DJ, Altemose N, et al. The complete sequence of a human Y chromosome. *Nature*. 2023;621(7978):344-54.
 51. Colaco S, Modi D. Consequences of Y chromosome microdeletions beyond male infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(7):1329-37.
 52. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2018;16(1):14.

53. Ferrás C, Fernandes S, Marques CJ, Carvalho F, Alves C, Silva J, et al. AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(10):755-61.
54. Fan Y, Silber SJ. Y Chromosome Infertility. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993
55. Wilson MA. The Y chromosome and its impact on health and disease. *Hum Mol Genet*. 2021 s. 296-300.
56. Denning CR, Sommers SC, Quigley HJ Jr. Infertility in male patients with cystic fibrosis. *Pediatrics*. 1968;41(1):7-17.
57. Sokol RZ. Infertility in men with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2001;7(6):421.
58. Yoon JC, Casella JL, Litvin M, Dobs AS. Male reproductive health in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2019;18: s. 105-10.
59. Modebe O, Ezech UO. Effect of age on testicular function in adult males with sickle cell anemia. *Fertil Steril*. 1995;63(4):907-12.
60. DeBaun MR. Hydroxyurea therapy contributes to infertility in adult men with sickle cell disease: a review. *Expert Rev Hematol*. 2014;7(6):767-73.
61. Smith-Whitley K. Reproductive issues in sickle cell disease. *Hematology*. 2014;2014(1):418-24.
62. Sahoo L, Kullu B, Patel S, Rout P, Patel N, Purohit P, et al. Study of seminal fluid parameters and fertility of male sickle-cell disease patients and potential impact of hydroxyurea treatment. *J Appl Hematol*. 2016;7(3):90.
63. Visconti PE, Galantino-Homer H, Moore GD, Bailey JL, Ning X, Fornes M, vd. The molecular basis of sperm capacitation. *J Androl*. 1998;19(2):242-8.
64. Jaiswal BS, Eisenbach M. 3 - Capacitation. İçinde: Hardy DM, editör. *Fertilization*. San Diego: Academic Press; 2002. s. 57-117
65. De Jonge C. Biological basis for human capacitation. *Hum Reprod Update*. 2005;11(3):205-14.
66. Bhasin MK. Human Population Cytogenetics: A Review. *Int J Hum Genet*. 2005;5(2):83-152.
67. Šípek A, Mihalová R, Panczak A, Hrčková L, Janashia M, Kaspříková N, et al.

Heterochromatin variants in human karyotypes: a possible association with reproductive failure. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(2):245-50.

68. Tempest HG, Simpson JL. Why are we still talking about chromosomal heteromorphisms? *Reprod Biomed Online*. 2017;35(1): s. 1-2.

69. Minocherhomji S, Athalye AS, Madon PF, Kulkarni D, Uttamchandani SA, Parikh FR. A case-control study identifying chromosomal polymorphic variations as forms of epigenetic alterations associated with the infertility phenotype. *Fertil Steril*. 2009;92(1): s. 88-95.

70. Madon PF, Athalye AS, Parikh FR. Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility. *Reprod Biomed Online*. 2005;11(6):726-32.

71. Fainberg J, Kashanian JA. Recent advances in understanding and managing male infertility. *F1000Research*. 2019;8:F1000 Faculty Rev-670.

72. Maroufizadeh S, Hosseini M, Rahimi Foroushani A, Omani-Samani R, Amini P. The effect of depression on quality of life in infertile couples: an actor-partner interdependence model approach. *Health Qual Life Outcomes*. 2018;16(1):73.

73. Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Cytogenetic and molecular analysis of male infertility: Y chromosome deletion during nonobstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *Cell Biochem Biophys*. 2006;44(1):171-7.

74. Hotaling JM. Genetics of male infertility. *Urol Clin North Am*. 2014;41(1):1-17.

75. Quilter CR, Svennevik EC, Serhal P, Ralph D, Bahadur G, Stanhope R, et al. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening of a random group of infertile males. *Fertil Steril*. 2003;79(2):301-7.

76. Zhao P, Gu X, Wu H, Deng X. Molecular and cytogenetic analysis of infertile Hakka men with azoospermia and severe oligozoospermia in southern China. *J Int Med Res*. 2019;47(3):1114-23.

77. Beyaz C, Gunes S, Onem K, Kulac T, Ascı R. Partial Deletions of Y-Chromosome in Infertile Men with Non-obstructive Azoospermia and Oligoasthenoteratozoospermia in a Turkish Population. *In Vivo*. 2017;31(3):365-71.

78. Iijima M, Shigehara K, Igarashi H, Kyono K, Suzuki Y, Tsuji Y, et al. Y chromosome microdeletion screening using a new molecular diagnostic method in

1030 Japanese males with infertility. *Asian J Androl.* 2019;22(4):368-71.

79. S Al-Ouqaili MT, Al-Ani SK, Alaany R, Al-Qaisi MN. Detection of partial and/or complete Y chromosome microdeletions of azoospermia factor a (AZFa) sub-region in infertile Iraqi patients with azoospermia and severe oligozoospermia. *J Clin Lab Anal.* 2022;36(3):e24272.

80. Krausz C, Cioppi F, Riera-Escamilla A. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Rev Mol Diagn.* 2018;18(4):331-46.

81. Sahin FI, Yilmaz Z, Yuregir OO, Bulakbasi T, Ozer O, Zeyneloglu HB. Chromosome heteromorphisms: an impact on infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2008;25(5):191-5.

82. Schoor RA, Elhanbly S, Niederberger CS, Ross LS. The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility. *J Urol.* 2002;167(1):197-200.

83. Hofherr SE, Wiktor AE, Kipp BR, Dawson DB, Van Dyke DL. Clinical diagnostic testing for the cytogenetic and molecular causes of male infertility: the Mayo Clinic experience. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28(11):1091-8.

84. Stahl PJ, Masson P, Mielnik A, Marean MB, Schlegel PN, Paduch DA. A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril.* 2010;94(5):1753-6.

85. Koşar PA, Özçelik N, Koşar A. Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *J Assist Reprod Genet.* 2010;27(1):17-21.

86. Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Cytogenetic and molecular analysis of male infertility: Y chromosome deletion during nonobstructive azoospermia and severe oligozoospermia. *Cell Biochem Biophys.* 2006;44(1):171-7.

87. Quilter CR, Svennevik EC, Serhal P, Ralph D, Bahadur G, Stanhope R, et al. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening of a random group of infertile males. *Fertil Steril.* 2003;79(2):301-7.

88. Dohle GR, Halley DJJ, Van Hemel JO, van den Ouwel AMW, Pieters MHEC, Weber RFA, vd. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2002;17(1):13-6.

89. Hammami W, Kilani O, Ben Khelifa M, Ayed W, Abdelhak S, Bouzouita A,

- vd. Prevalence of Y chromosome microdeletions in infertile Tunisian men. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2014;72(3):331-6.
90. Arumugam M, Shetty DP, Kadandale JS, Kumari SN. Y chromosome microdeletion and cytogenetic findings in male infertility: A cross-sectional descriptive study. *Int J Reprod Biomed*. 2021;19(2):147-56.
 91. Singh K, Raman R. Y-haplotypes and idiopathic male infertility in an Indian population. *Indian J Hum Genet*. 2009;15(1):19-22.
 92. Nowier SR, El-sheikh MM, Rasool HA, Ismail S. Prevalence of Y chromosome microdeletion in males with azoospermia and severe oligospermia in Egypt. *Res J Med Med Sci*. 2009;4:189.
 93. Ng PPY, Tang MHY, Lau ET, Ng LKL, Ng EHY, Tam PC, vd. Chromosomal anomalies and Y-microdeletions among Chinese subfertile men in Hong Kong. *Hong Kong Med J*. 2009;15(1):31-8.
 94. Mafra FA, Christofolini DM, Bianco B, Gava MM, Glina S, Belangero SIN, vd. Chromosomal and molecular abnormalities in a group of Brazilian infertile men with severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia attending an infertility service. *Int Braz J Urol* 2011;37(2):244-50; discussion 250-251.
 95. Tse JYM, Yeung WSB, Ng EHY, Cheng LN, Zhu HB, Teng XM, et al. A comparative study of Y chromosome microdeletions in infertile males from two Chinese populations. *J Assist Reprod Genet*. 2002;19(8):376-83.

9. EKLER

9.1. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Cihan	Soyadı	Durmuş
-----	-------	--------	--------



9.2. ETİK KURUL RAPORU

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES				
KARAR				
Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ, Yüksek Lisans Öğrencisi Cihan DURMUŞ isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Azospermi ve oligospermi hastalarda kromozom analizi ve Y-mikrodelesyonu sonuçlarının değerlendirilmesi" başlıklı araştırmaya <i>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u</i> tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.				
DECISION				
The project titled as "Evaluation of chromosome analysis and Y-microdeletions results in patients with azospermia and oligospermia" planned by Selahattin TEKEŞ, Cihan DURMUŞ has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.				
Oturum No (Meeting number):		Tarih (Date): 20.12.2023	Saat (Hour): 10:00-12:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. İbrahim KAPLAN		
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS				
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI
1	Prof. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya
2	Doç. Dr.	Fikret SALIK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon
3	Doç. Dr.	Mehmet TÖRE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
4	Doç. Dr.	Seyfettin ERDEM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Göz Hastalıkları
5	Doç. Dr.	Muhammed Akif DENİZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji
6	Doç. Dr.	Ulaş ALABALIK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji
7	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji ve Genetik
8	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik
9	Dr. Öğretim Üyesi	Mehmet Fatih AKKOÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Plastik Cerrahi
10	Uzman Dr.	Abdullah ŞEN	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Acil Tıp
11	Dr. Öğretim Üyesi	Zeynep ERDOĞMUŞ ÖZGEN	Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Farmakoloji
12	Avukat	Şahhanım KAPLAN	Dicle Üniversitesi Rektörlük	Hukuk Müşavirliği

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DİYARBAKIR
Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

9.3. ORJİNALLİK RAPORU

ORJİNALLİK RAPORU

%15	%13	%4	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	%5
2	www.snp.com.tr İnternet Kaynağı	%3
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
4	oaji.net İnternet Kaynağı	%1
5	Submitted to Balıkesir Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
6	www.drgamzeczaglar.com İnternet Kaynağı	%1
7	Varinderpal S. Dhillon, Syed A. Husain. "Cytogenetic and molecular analysis of the Y chromosome: absence of a significant relationship between CAG repeat length in exon 1 of the androgen receptor gene and infertility in Indian men", International Journal of Andrology, 2003 Yayın	<%1