

## Erkek infertilitesinde genetik bilgilendirme

Prof. Dr. Murat Şamlı

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı

İnfertilite, problem olan kişileri sosyoekonomik açıdan geniş çapta ilgilendiren, dolayısı ile toplumu da ilgilendiren, bir sağlık problemidir. Klinik olarak 1 yıl süre ile korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanmaktadır. Dünya çapında infertilite prevalansı %10-15 arasında olduğu tahmin edilmektedir (1,2). İlk olarak, detaylı kişisel hastalık ve aile hikayesi, ayrıntılı fizik muayene, sonrasında ise yapılacak semen analizi, sperm fizyolojisi testleri, semen kalitesi ve endokrin değerlendirme ile hasta hakkında bir fikre ulaşılır. Seçilmiş hasta grubunda periferik kandan çalışılan karyotip analizi, Y kromozom mikrodelsiyon analizi de çalışılmalıdır (3). Tiepolo ve Zuffardi (4) ilk kez 1976'de Yq mikrodelsiyonları ile spermatogenetik bozukluk arasındaki ilişkiyi öngörmüştür, sonrasında ise yapılan araştırmalar idiopatik azoospermik erkeklerin yaklaşık %18'inde bu lezyonların bulunduğunu göstermiştir (5,6). İnfertilitenin genetik bağlantısını gösteren bir diğer durum, obstruktif azoospermi ile klinikte görülen, hastaların yaklaşık %25'inde tespit edilen konjenital bilateral vaz deferens agenezisi (CBAVD) olgularıdır (7). Kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) gen mutasyonlarında %80 oranında anatomik defektler de görülmektedir (8). Tüm infertil erkeklerde komplet hastalık hikayesinin alınması ve fizik muayene infertilite faktörünün tespit edilmesi için önerilmektedir. Amerikan Üroloji

Derneği (American Urological Association) ve Amerikan Üreme Tıbbı Uygulama Komitesi (American Society for Reproductive Medicine Practice Committees) infertil çiftin eş zamanlı ve birbirine paralel bir şekilde incelenerek ilerlenilmesini önermektedir (9).

Genetik test yapılmasının androlojideki temel endikasyonu azoospermi ve ağır oligospermidir. Androloji kliniğinde çalışılan temel genetik testler; 1- Kromozom analizi ve diğer sitogenetik analizler (örn. FISH; fluoresan insitu hibridizasyon); 2- PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile Y kromozom mikrodelsiyon analizi; 3- Seçilmiş bazı genlerin sekanslanmasıdır. İnisyal değerlendirmede ikincil endikasyon infertil erkekde bulunabilecek genetik durumun tedavi prognozunu etkileyip etkilemeyeceği ve elde edilecek çocuğun sağlığı konusunda sorun olup olmayacağıdır.

Aşağıdaki tabloda infertilite tanısına göre saptanabilecek genetik durumlar ve sıklığı görülmektedir (Tablo 1).

Spermatotoksik kemoterapi veya bilateral kabakulak orşiti gibi bilinen bir sebep olmayan ciddi oligospermisi (<5 milyon/mL) olan hastalara karyotip analizi ve Y kromozom mikrodelsiyon analizi önerilmelidir (10). Azoospermi ve oligospermik hastaların yaklaşık %20'sinde genetik bir neden bulunabilir. Karyotip analizi non-obstruktif azoospermide çalışılması endikedir, çünkü kromozomal anomaliler bu hasta grubunda %15 oranında görülmekte-

**Tablo 1.** Ejakulattaki sperm sayısına göre genetik problemlerin sıklığı.

Tanı	Kromozom Anormallik Riski	Y- Kromozom Mikrodelsiyon Riski	CF Mutasyonu/5T Allel Riski
Oligospermi (5 milyon/mL)	%2-7	%6-8	Genel popülasyon ile aynı
Non-obstruktif azoospermi	%15	%13	Genel popülasyon ile aynı
Konjenital unilateral vaz deferens agenezisi (%15)	Artmamıştır*	Artmamıştır*	%50'ye kadar
Konjenital bilateral vaz deferens agenezisi	Artmamıştır*	Artmamıştır*	%80'e kadar

\* Konjenital veya edinsel obstrüksiyon durumları var olan sperm üretim problemlerini gizleyebilir. Sperm üretim problemleri birlikte var ise bu klinik durumların oluş riski de artmış olabilir.

dir. Bu tetkikler sadece genetik etyolojinin ortaya konması için değil aynı zamanda çiftin konu hakkında karar vermesi ve bir sonraki aşamaya geçip geçmeyeceklerine karar vermeleri açısından da önem taşımaktadır.

Üreme tıbbında aşağıdaki durumlarda kromozom analizi endikedir:

- 1- Seksüel differansiasyon bozukluğu olguları
- 2- Spermatogenezin bozulduğu erkek infertilite hastaları

Kromozomal bozukluklar seks kromozomlarındaki sayısal aberasyonlar (Klinefelter sendromundaki (47,XXY) olabildiği gibi), translokasyonlar, inversiyonlar, insersiyonlar, ring kromozomlar veya marker kromozomlarda olduğu gibi yapısal aberasyonlar da olabilir. Translokasyon veya inversiyon gibi kromozomal bozukluklar, ICSI sonrası gelişen gebeliklerde bebeğe ait dengesiz bir kromozomal kuruluşun gelişme olasılığı nedeni ile önem taşımaktadır.

Y kromozom mikrodelesyon analizi ise sitogenetik olarak tespit edilmesi olası olmayan, Y kromozom üzerindeki mikrodelesyon bölgelerini tespit etmektedir (11, 12, 13). Y kromozom üzerindeki bu bölgelerin komplet veya parsiyel kaybı durumunda spermatogenez bozulabilmektedir (14). Klinik terminolojide AZFa, AZb ve AZFc bölgeleri olarak adlandırılan üç alanın mikrodelesyonu sperm üretiminde bozulma veya tamamının yokluğu şeklinde tanımlanır (15, 16). Özellikle ICSI veya TESE/ICSI adayı hastalara Y kromozom delesyonları açısından inceleme önerilmelidir, çünkü komplet AZFa delesyonu, komplet AZFb delesyonu veya AZFb+c bölge delesyonu olan hastalarda TESE işlemi önerilmemektedir. Ayrıca AZFc bölge delesyonları yardımcı üreme yöntemi kullanılması ile erkek bebeğe transmisyonu söz konusudur (17, 18). AUA 2010 yılında yayınladığı yönergede tüm non-obstruktif azoospermik hastalar ve <5milyon/mL şiddetli oligospermik hastalara karyotip ve genetik danışmanlık önerilmesi tavsiye edilmektedir (19).

Obstruktif azoospermide ve konjenital vaz deferens agenezisinde (CBAVD) ise kistik fibrosis mutasyon analizi gereklidir (20, 21, 22). Klinik kistik fibrosis kalıtsal otozomal resesif geçen, Kuzey Avrupa'da 1:1,600 oranında görülen ve taşıyıcılık frekansı 1:20 olan bir hastalıktır (23). Kistik fibrosis geni 7. kromozomun uzun kolunda lokalizedir (7q31.2) ve kistik fibrosis transmembran regulatorü (CFTR) adı verilen bir protein kodlar. Mutasyonların kombinasyonu hastalığın şiddetini belirleyen en önemli fak-

tördür. CBAVD, klinik olarak CFTR disfonksiyonunun vaz deferens agenezisi dışında kistik fibrozise ait klinik görülmemeyen en az şiddetli olan formudur. Günümüze kadar 1000'in üzerinde mutasyon ve polimorfizm saptanmıştır ancak bunların çoğu çok seyrek olarak rastlanan tipde mutasyonlardır. En sık uygulanan yöntem, en sık rastlanan 30-40 mutasyonun çalışılması, bu ilk çalışmada iki mutasyonun saptanmaması durumunda ise daha sonra ikinci bir 60 mutasyon içeren set taramasının yapılması şeklinde olmaktadır. Eğer hala iki mutasyon tespit edilemiyor ise tüm genin taranması bir sonraki aşamayı oluşturabilmektedir. CBAVD hastalarında en sık rastlanan aberasyon olan 5T alleli (IVS8-5T) taraması inceleme paneline dahil edilmelidir (24, 25). Kistik fibrozis geninin intron 8 bölgesinde polimorfik politimidin dizisi beş, yedi veya dokuz timidin bazının yanyana dizilmesi şeklinde yer alır. Eğer sadece 5 timidin var ise, transkribe olan pre-mRNA aberrant olma eğilimindedir ve bunun sonucunda üretilen CFTR proteininde gerekli aminoasitlerin yer alamaması ile protein fonksiyon ve etkinliğinde yetersizlik olacaktır.

### Kromozomal bozukluklar

Klinefelter sendromu %0.2 prevalansı ile erkek hipogonadizminin en sık görülen formudur. Androloji kliniklerinde 10 kat daha fazla görülmektedir (26). Klinefelter hastalarının testislerinde primordial germ hücreleri bulunmasına rağmen, bu hücreler hızla dejenere olur ve puberte yaşlarında bu grup hücre ya hiç kalmaz yada çok az miktarda kalır (27). Eş zamanlı olarak karşıt bir cevap olarak Leydig hücreleri de hiperplastik hale gelir. Spermatogenezin de bulunmaması ile testisler çok küçük olarak kalırlar ve değişik oranlarda androjen eksikliği bulguları ortaya çıkar. Germ hücrelerinin erken kaybı elonge spermatidlerin genç hastalarda bulunabilirken, daha yaşlı hastalarada neden bulunmadığını açıklamaktadır (28).

Klinefelter hastalarında spontan paternite çok nadirdir ve geliştiğinde yayın olacak derecede kıymetli bir durumdur (29). Mozaik olan hastalarda belirgin oligospermi görülebilir. Azoospermi durumunda testis biyopsisi gerekli değildir. Klinefelter hastası tespit edildiğinde genetik danışmanlık verilerek prenatal tanı işlemleri uygulanmalıdır. Olguların %50 kadarında gebeliğin sonlandırılma kararı verildiği, bazı merkezlerde %15 abortus için indüksiyon uygulandığına dair raporlar mevcuttur (30, 31). Klinefelter hastalarında TESE ile sperm elde edilmesi sonrası ICSI

gebelikleri oldukça sık olarak görülebilmektedir. 22 yayına ait bir değerlendirmede 227 hastadan TESE işlemi yapılmış ve bunların 125'inde sperm bulunmuş ve bu spermler 64 canlı doğumun elde edilmesini sağlamıştır (32). Daha genç Klinefelter hastalarında sperm bulunma şansının ileri yaşlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur, ancak hala bu bulguya ait sistematik çalışmalar eksiktir. Mozaik form Klinefelter hastalarında ise sperm elde etme şansı klasik formlara göre daha yüksektir. Herhangi bir koşulda eğer çocuk talebi var ise testostereone substitusyon tedavisi kontrendikedir, çünkü ekzojen testostereone spermatogenezi suprese edecektir. Eğer başlanmış ise substitusyon en az 3-6 ay bırakılmalıdır. Bu hasta grubunda normal karyotipte çocuklar elde edilmiş olmakla birlikte, çiftler embriyo veya çocukta anöploidi riskinin yüksek olduğundan haberdar edilmelidir, bu risk sadece seks kromozomu için değil, kromozom 18 ve 21 için de geçerli olmaktadır. Bu çiftlere preimplantasyon tanı veya prenatal tanı yöntemlerinin uygulanması önerilmektedir (33).

XX male sendromunda XX erkekler dişi karyotipi gösterirler (46,XX), ancak fenotipik olarak erkektir ve internal veya eksternal dişi genital organ taşımazlar. Bu genetik bozukluğun prevalansı 1:10,000-1:20,000 arasındadır. Bu durumu gösteren hastaların %90'ında erkek bireye ait olan paradoksal durum iki X kromozomundan birinin üzerinde yer alan Y kromozomuna ait spesifik genetik informasyonun yer alması ile açıklanmaktadır. Bugüne kadar bu şekilde 250 kadar olgu bildirilmiştir (34, 35). Klinik anlamada XX erkekleri Klinefelter hastalarından ayırt etmek zordur, sadece karyotip analizi bu anlamda tanıyı doğrular. Semen azospermiktir ve bugüne kadar TESE/ICSI ile paternite bildirilmemiştir.

XYY sendromunda ise 47, XYY karyotip bireyler klinik açıdan dikkat çekici bireyler değildir. Varsayılan insidensi 1: 2,000 'dir. 47, XYY tespit edilen hastada sperm parametreleri problemlidir, idiopatik durumlarda uygulanan tedavi seçenekleri kullanılabilir. 47, XYY erkeklerin hemen hemen her zaman normal karyotipli çocukları olmaktadır. ICSI ile elde edilen gebelikte emin olmak için prenatal tanının teklif edilmesi uygundur. XYY sendromu eğer prenatal tanı sırasında belirlendiyse, ailelerin genellikle yarısı gebelik sonlandırmayı tercih etmektedir.

Sayısal kromozom anomalilere ilave olarak (örneğin, Klinefelter sendromu), yapısal kromozomal aberasyonlarda klinikte androloglar için önemli olan bir kategoriye

oluşturur. Seks kromozomlarına (gonozomlar) ait yapısal anomaliler otozomal anomalilerden farklıdır. Buna ek olarak delesyonlar, translokasyonlar, inversionlar da anomalileri oluşturan mekanizma içinde yer alır. Yapısal bir kromozomal anomali klinik amaçlı değerlendirilirken karyotipin dengeli ya da dengesiz olup olmadığı göz önünde tutulmalıdır. Eğer dengesiz karyotip söz konusu ise genetik materyalin hücre içinde eksik veya fazla miktarda olduğu bir durum söz konusu demektir. Hem dengeli hem de dengesiz yapısal kromozom anomaliler erkek üreme sisteminde bozukluklara neden olabilir (36, 37). Yardımlı fertilizasyon gibi yöntemler bazı kromozomal aberasyonları olan infertil hastalarda uygulanabilir. Ancak, başarı oranlarının normal karyotipi olan hastalardan düşük olacağını da bilmek gereklidir (38). Ayrıca dengeli kromozom anomalisi olan ebeveynlerden, dengesiz kromozomal kuruluşlu embriyonun gelişebileceği de bilinmektedir (39). Genetik danışmanlığın bu hasta grubunda, potansiyel ve prenatal tanı seçenekleri ile riski tahmin etmek için zorunlu olması gerekir.

Y kromozomunda delesyon ve mikrodelesyonlara ek olarak bir dizi daha yapısal anomali bilinmektedir. İzodisentrik Y kromozomu, mozaik 45,X-hücre dizisinde hemen her zaman ortaya çıkan kompleks bir aberasyondur. Fenotipik olarak erkek, kadın ya da belirlenemeyen bir cinsiyet olabilir. Erkek fenotipli hastalar genellikle infertildir.

Otozomal kromozomların yapısal anomalileri (1-22 kromozom çiftleri) erkek infertilitesine neden olabilmektedir. İnfertil erkeklerdeki prevalansı %1-2 arasındadır. Dengeli otozomal anomaliler kromozomların mayozdaki eşleşmelerini bozarak spermatogenezi olumsuz etkileyebilirler. Bazı dengeli otozomal aberasyonların spermatogenez üzerindeki etkisi bir hastada çok şiddetli olurken, bir diğesinde çok hafif görülebilmektedir. Bazen fonksiyonel olarak ilgisiz kromozomal polimorfizmler de uzman olmayan kişiler tarafından, önemli olabileceği düşünülerek, rapor edilebilmektedir. Bu tipte sıklıkla rapor edilen iki bulgu 9. kromozomdaki perisentrik inversiyon ve bu kromozomdaki perisentromerik heterokromatinin genişlemesidir (analiz raporlarında 9qh+ ile ifade edilir). Bu ve benzer bulguların patolojik önemi olmadığı gibi hastaya da bahsedilmesi gerekli değildir. Öte yandan resiprokal ve Robertsonian translokasyonlar, peri ve parasentrik inversiyonlar patolojik önem taşıyabilir. Belirli bir kromozomal anomalinin spermogram üzerindeki etkisini predikte

etmek mümkün değildir. Ancak translokasyonlar ve inversiyonlar infertil erkeklerde yenidoğanlara göre daha sıklıkla görülmektedir, bu nedenle patogenetik bir ilişki olması kaçınılmazdır. En sık rastlanan klinik durum, patolojik spermograma sahip erkekte saptanan translokasyon veya inversiyonun bu durumun sebebi olup olmadığının ortaya koyduğu sorudur. Bu sorun ancak olası diğer durumlar gözden geçirildikten sonra pozitif şekilde cevaplanabilir. Nümerik kromozomal bozukluklar ve gonozomların struktürel bozukluklarının aksine, otozomal struktürel aberasyonlar azospermiden çok oligospermi ile ilişkili bulunmaktadır. Translokasyonlar ve inversiyonlar genellikle familial kromozomal aberasyonlar olarak ortaya çıkarlar. İnfertil birey genellikle ailedeki ilk aberasyonun tespit edildiği kişi olarak ortaya çıkar. Bu gibi durumlarda ailenin genetik incelenmesi de teşvik edilmelidir. Translokasyon veya inversiyonlar genellikle yüksek abortus oranı ile ilişkilidir ve bazı olgularda ciddi defektlere sahip çocukların doğması riskini de beraberinde getirmektedir.

### Y Kromozom mikrodelesyonları

AZF delesyon tarama endikasyonları sperm sayısı esas alınarak konulmaktadır ve azospermik veya şiddetli oligozoospermik (<5 milyon spermatozoa/ml) hastalar bu endikasyonları oluşturmaktadır. Rutin mikrodelesyon taraması için bu protokolün temel klinik delesyonları % 95'in üzerinde tespit etmek için yeterli olduğu tahmin edilmektedir.

Non-obstrüktif azospermide %20, şiddetli oligospermide %10 ve tüm infertillerde  $\leq$  % 1 oranında prevalansı bulunmaktadır. Vogt ve arkadaşları şiddetli erkek infertilitesinde Yq üzerinde AZFa, AZFb ve AZFc olarak birbirinden relatif olarak ayrı bölgeler tanımlamışlardır (40). Sonraki çalışmalar da bu bölgeleri taşıyan erkeklerdeki sperm elde etme oranlarını ortaya koymuşlardır (16). Daha sonraları AZF bölgeleri palindromik tekrar bölgeleri olarak yeniden tanımlanmıştır. Y kromozomunun komplet sekans analizi AZF delesyonlarının oluşum mekanizması hakkında daha açıklayıcı olmuştur; repetitif sekanslar (yani palindromlar) arasındaki homolog rekombinasyon intermittan bölgelerin kaybına neden olmaktadır (41).

Yeni bir delesyon tipi olan gr/gr delesyon AZFc bölgesinde tarif edilmiştir (42). Ancak tanımlanan bu küçük delesyonların (b2/b3 delesyonu, gr/gr delesyonu) patolojik bir durum mu yoksa normalin varyasyonu mu (po-

limorfizm) olduğu henüz tamamen netleşmemiştir. gr/gr delesyonları infertil erkeklerin yanı sıra normal sperm konsantrasyonu olan erkeklerde de bulunmuştur (43). Babadan oğula spontan AZFc delesyonu transmisyonu tarif edilmiştir (44). AFZc delesyonu olan hastaların TESE ile testis biyopsisi bulunabilirliği %50 olmasına rağmen, ICSI ile başarı oranlarının 10%'un altında olması, yüksek oranda anöploid sperm varlığı nedeniyle olabilir. Herhangi bir yardımcı üreme yöntemine başlamadan önce bu hastalara genetik danışmanlık verilmelidir, çünkü paternal Y kromozom mikrodelesyon taşıyıcısının erkek çocuğu da aynı Y kromozomunu taşıyacak ve olasılıkla erkek infertilitesi kalmaktadır (45).

Fertiliteyi etkileyen Y kromozom delesyonları genellikle bir veya daha fazla AZFa, AZFb veya AZFc bölgesini tamamen etkileyen delesyonlardır. Sadece AZFc delesyonu olan erkeklerin 2/3'ünde ejakulatta oligospermi şeklinde sperm bulunmaktadır. Azospermik olan AZFc delesyonlu erkeklerde sıklıkla testiste sperm bulunmaktadır ve testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) işlemi ile ortalama %58-75 hastadan sperm elde edilebilmektedir (16). AZFb delesyonu olan erkeklerde ejakulatta veya TESE ile sperm bulma şansı ciddi oranda azalmıştır (45). Literatürde AZFb delesyonu olan 23 hastanın hiç birinde testis biyopsisi veya TESE işleminde sperm bulunmadığını bildiren yayınlar mevcuttur (16). AZFb delesyonlarında genellikle azospermi ile birlikte testiste parsiyel mayotik arrest (round spermatid aşamasına kadar) ve nadiren de elongated spermatid görülür. Bu nedenle AZFb bölgesinin tamamında delesyon olan hastalara TESE işlemi önerilmemektedir. AZFa bölgesinin tamamını içeren delesyon varlığında diagnostik biyopside sıklıkla Sertoli-cell only sendromu görülür (46). AZF bölgesindeki delesyonlarda parsiyel veya komplet delesyon olup olmadığının ayırt edilmesi önem kazanmaktadır. AZFa veya AZFb bölgesindeki komplet delesyonlarda bugüne kadar sperm elde edilememiştir. Y kromozom anomalileri ki buna delesyonlar da dahildir, yardımcı üreme yöntemleri ile erkek çocuğa geçecektir. Bu nedenle bu kişilerin tedavi öncesi genetik danışmanlık alması gereklidir. Kent-First ve ark yaptığı, ICSI ile doğan erkek çocuklar ve babaları ile ilgili çalışmada, çocukların %10'unda Y kromozom mikrodelesyonları saptanmıştır. Ayrıca bu çocuklarda infertilite dışında başka medikal sorunların olup olmayacağı da belli değildir. Bu nedenle bu hastaların genetik danışmanlığını zor hale getirmektedir.

Öte yandan başka açılardan normal ve sağlıklı olan babaları gibi Y kromozom mikrodelesyonunun çocuklarda major konjenital defekte neden olmayacağını da düşünmektedir. Bu sorunun belirgin cevabı çocukların doğumundan yıllar sonrasında ortaya konulabilecektir.

Yukarıda bildirilen genotip/fenotip ilişkisi Y delesyon analizi ile testiküler sperm eldesi için bir tanı ve prognostik değeri olduğu anlamına gelir (47). Amerikan Üroloji Derneği'nin 2010 yılında yayınladığı azoospermik erkeğin değerlendirilmesi ile ilgili yönergede Y kromozom mikrodelesyon çalışması yapmak için minimum marker bölge sayısının ne olması gerektiğini belirlemeye yetecek bilginin henüz eksik olduğunu, her ne kadar AZFa veya b bölgelerini içeren geniş delesyonlarda sperm elde edilme şansı düşük olsa da, delesyon analizinin kesin olarak sperm yokluğunu söyleyemeyeceğini rapor etmiştir (19).

### **Kistik fibrozis ve konjenital bilateral vaz deferens agenezisi**

Obstrüktif azoospermiye (OA) sahip erkekler, mikrocerrahi ya da yardımcı üreme teknikleri ile sperm elde etme işlemleri için aday olabilirler. Kistik fibrozis, ölümcül otozomal-resesif bir hastalıktır. Beyaz ırkta en yaygın görülen genetik hastalıktır; beyaz ırkın %4'ü kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) gen mutasyon taşıyıcısıdır. Vaz deferensin bilateral kongenital yokluğu (CBAVD) CFTR gen mutasyonlarıyla ilişkilidir ve oligoastenozoospermi ile kliniğe başvuran erkeklerin yaklaşık %2'sinde mutasyon bulunmuştur (48). Ancak bu gruptaki erkeklerdeki insidansı, ülkelere göre değişkenlik göstermektedir. Vaz deferens yokluğunun klinik tanısı oldukça zordur ve semen volümü <1.5 mL ve pH'ı 7'den az olan azoospermili erkeklerin tamamı CBAVD bakımından çok dikkatli bir şekilde incelenmelidir. CFTR geninin her iki kopyasında da mutasyon bulunabilmekle birlikte, çoğu CBAVD'li erkeklerde sadece bir kopyada mutasyon bulunur. CBAVD'li erkeklerin 2/3'sinde CFTR'nin kodlanmayan bölümünde bir DNA varyantı (5. alel) belirlenebilir (49). Bu nedenle, 5T-trakt varyantı bir polimorfizmden çok CFTR mutasyonu olarak değerlendirildiği için her CBAVD hastası analiz edilmelidir. CBAVD'li erkekler genellikle kistik fibrozisin, akciğer enfeksiyonları öyküsü gibi, zayıf klinik semptomlarını gösterir (50). CBAVD olan bir erkeğin kendisini ve eşini CF mutasyonları için test etmesi önemlidir. Eğer bayan partner CFTR taşıyıcısı ise, çift ICSI'ye devam edip etmeme konusunda karar

vermede dikkatli olmalıdır, çünkü bebeğin CF hastası olma olasılığı erkek heterozigotsa %25, homozigotsa %50'dir. Eğer bilinen mutasyonlar için bayan negatif ise, bilinmeyen mutasyonlar için taşıyıcı olabilme şansı %0.4'tür. Vaz deferensin unilateral olarak yokluğu genellikle ipsilateral böbreğin yokluğu ile ilişkili olup olasılıkla değişik bir genetik nedene dayanmaktadır (51). Vaz deferensin tek taraflı yokluğu olan normal böbreklere sahip erkekler veya çift taraflı vaz deferens yokluğu olan erkekler CF mutasyonları bakımından test edilmelidir. CBAVD'li bütün erkekler renal anomaliler bakımından; bayan partnerleri ise CFTR bakımından değerlendirilmelidir.

Amerikan Üroloji Derneği'nin 2010 yılında yayınladığı yönergeye göre kongenital bilateral vaz deferens eksikliği bulunan erkekler kistik fibrozis transmembran konduktans regülatör mutasyonları bakımından test edilmeli ve genetik danışmanlık verilmelidir. Bayan partnerler de vaz deferens eksikliği bulunan erkeklerden sperm alınmadan önce kistik fibrozis transmembran regülatör mutasyonları için test edilmelidir. Tek taraflı vazal agenezis veya vaz deferensin kongenital her iki taraflı eksikliği bulunan ve kistik fibrozis transmembran regülatör anormallikleri göstermeyen erkeklere böbrek anomalileri bakımından da analiz tavsiye edilmelidir (19).

DSÖ tanımına göre Genetik Danışmanlık, aile içinde bir genetik hastalık oluşabileceğine dair problemler ile uğraşan bir iletişim sürecidir.

Bireye ya da ailesine yardım etmek amacı ile:

- Tıbbi gerçeklerin ortaya konulması, tanı, öngörülen progresyon ve mümkün olan tedavilerin konuşulması
- Hastalığın kalıtılan kısmının anlaşılması ve bilinen akrabalarda ortaya çıkmasının anlaşılması
- Tekrarlanma olasılığını ortaya koymak
- Riske uygun kararın belirlenmesi, aile durumu, etik ve dini inançlarına uygun bir karar verilmesi ve bu doğrultuda harekete geçilmesi
- Sorunlu bireyin aile üyeleri tarafından mümkün olan en iyi şekilde ilgilenilmesi

Üreme tıbbi çerçevesinde aşağıdaki durumlarda genetik danışmanlık gereği ortaya çıkar:

- Kadın ya da erkek infertilitesinin genetik açıklaması
- Hatalı cinsel farklılaşmanın genetik açıklaması
- Habitüel düşüğün genetik açıklaması

- Yardımcı Üreme Teknikleri sonrası oluşan çocuklardaki risk hakkında genetik danışma

Genetik tanı öncesinde, genetik tanının anlamı ve sınırları hakkında danışmanlık yer almalıdır.

Özetle eğer non-obstruktif azoospermik (NOA) bir erkeğin Y kromozom mikrolelesyon analiz testinde AZFa, AZFb veya AZFb/c mikrolelesyonuna rastlanırsa, bu mikrolelesyonlar spermatogenezis ile bağlantılı oldukları için testislerde (TESE) hiç sperme rastlanmayacaktır (26, 25). Bu yüzden bu mikrolelesyonların tespiti çift için negatif bir sonuç vermekle birlikte yardımcı bir durumdur. Delesyon açısından pozitif bir sonuç erkeğe yapılacak invazif cerrahi işlemlerin sonuçsuz olacağını gösterdiği gibi kadında ICSI stimulyon işlemlerinin zahmetinden ve boşa para harcanmasını önler. Bu mikrolelesyonlardan herhangi biri NOA erkeklerin %2'sinde görülmektedir (52). AZFa, AZFb, or AZFb/c mikrolelesyonlarının başka herhangi bir fenotipik sonucu bulunmamaktadır. Mikrolelesyonların hemen hepsi *denovo* gelişir, bu durumun kalıtılmadığını, babasının tüm Y kromozomlarının normal ve intakt olduğunu, ancak yumurtayı döleyen spermatozoadaki Y kromozomunun mikrolelesyone olduğunu göstermektedir. Eğer NOA bir erkekte AZFc mikrolelesyonu saptanırsa, TESE'de yaklaşık %70 oranında sperm bulunduğu konusunda şans verilebilmektedir (53). Bu spermler tamamiyle fonksiyonel olup, fertilizasyon, gebelik ve embriyo gelişimini sağlayabildikleri bilinmektedir (54). AZFc delesyonunun başka fenotipik veya genel sağlıkla ilgili bir problemi mevcut değildir. AZFc mikrolelesyonu olan tüm bebekler daha sonra AZFc mikrolelesyonunu kalıtacaklardır (53). Bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere AZFc mikrolelesyonunu taşıyan tüm erkeklerde sperm yoğunluğu yüksek oranda bir azalma göstermekle birlikte, çok düşük sperm sayılarından azoospermiye kadar varan (TESE'de hiç sperm bulunamayan olgular) bir yelpazede görülmektedir. Bunun sonucunda babaların durumu ne olursa olsun oğullarda yine bu aralıkta bir sonuç beklenmektedir.

Eğer kromozomal kuruluşu 47,XXY gösteriyor ise hasta Klinefelter sendromu olarak adlandırılır (55). Testislerin hem spermatojenik hem de adrojenik fonksiyonları belirgin şekilde disfonksiyoneldir. 47,XXY bireylerin ortak en önemli özelliği, testis hacimlerinin küçük olmasıdır (8-10cc). Bununla birlikte ejakülatta sperm bulunması enderdir ve tümünde belirgin FSH evelasyonu, LH düzeyinde

kompanseasyon amaçlı artış ve değişken testosteron seviyeleri görülür. İnfertilite değerlendirilmesi sırasında tanı konulan ve daha önce tedavi almamış 47, XXY erkeklerin %50'sinde mikrocerrahi ile TESE işleminde sperm bulunması mümkündür (56).

Karyotipi 46,XX şeklinde kromozomal kuruluş gösteren hastalar 46,XX male sendromu olarak tanımlanırlar (35). Y kromozomunun uzun kolunda bulunan ve spermatogenezis için gerekli olan bölgeler de bulunmamaktadır. Bu durumda TESE'de hiç sperm bulunmaması söz konusudur ve bu konudaki bilgiye çiftlere gereksiz yere masraf ve cerrahi işlem yapılmasına engel olacaktır. Eğer hastada isodisentrik Y kromozomu buluyorsa (iki kısa kol, iki sentromer ve değişken uzunlukta tek bir uzun kol), hastada spermatogenetik potansiyeli bulunabilir (57). Bu durum daha önce sözü edilen üç bölgenin bulunup bulunmamasına göre değişiklik göstermektedir. Y kromozom mikrolelesyon analizi, anormal Y üzerinde aberran kalıntıların değerlendirilmesine yardımcı olabilir.

Eğer translokasyon bulunursa hangi iki kromozomun yer aldığı, seks kromozomlarının dahil olup olmadığı, Robertsonian translokasyon olup olmadığı genetik danışmanlık verilme aşamasında faydalı olacak bilgilerdir.

Klinik olarak kistik fibrozis (CF) veya konjenital bilateral vaz deferens agenesisinde (CBAVD) bir erkekte CF mutasyonuna rastlanırsa aynı şekilde partnerine de CF mutasyon analizi yapılmalıdır (25). Çocuklarının hastalık fenotipini gösterip göstermeyeceğine karar verilmesi için annenin taşıyıcı olup olmadığına bilinmesi gerekir. Her çocuk iki paternal mutasyondan birini taşıyacaktır, ancak maternal mutasyon kalıtılıyor ise çocuk hastalığı gösterebilir ancak göstermeyebilir de, özellikle erkek çocuk CBAVD'den kistik fibrozise kadar değişebilen bağlı olarak klinik bir bulgu gösterebilir.

Sonuç olarak şiddetli reproduktif problemler büyük olasılıkla genetik bir temele bağlıdır ancak biz şu anda, sadece sınırlı miktarda genetik bir bilgiye sahibiz. İnfertilite problemini açacak stratejilerden önce, olası sebeplerini araştırmak, bu etyolojileri tanımlayacak rasyonel ve kapsamlı tanı planı yürütmek, bireyin ve çiftin kendileri için en iyi kararı vermelerini sağlamak zorunludur. Bizim biriktikçe ve genişledikçe, önemli soruları daha fazla anlamak ve en azından bir cevap vermek mümkün olacaktır.

## Kaynaklar

- World Health Organization. Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl* 1987; 7:1-53
- Matzuk, M. M. and D. J. Lamb. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. *Nat Cell Biol* 2002, 4 Suppl: s41-49
- Turek PJ. Practical approaches to the diagnosis and management of male infertility. *Nat Clin Pract Urol* 2005; 2:226-238
- Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34:119-124
- Huynh T, Mollard R, Trounson A. Selected genetic factors associated with male infertility. *Hum Reprod Update* 2002; 8:183-198
- Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001; 22:226-239
- Patrizio P, Leonard DG. Mutations of the cystic fibrosis gene and congenital absence of the vas deferens. *Results Probl Cell Differ* 2000; 28:175-186
- Stuhrmann M, Dork T. CFTR gene mutations and male infertility. *Andrologia* 2000; 32:71-83
- Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, et al. Best practice policies for male infertility. *Fertil Steril* 2002; 77:873-882
- Oates RD, Lamb D. Genetic Aspects of Male Infertility. In: Li Lipshultz, S Howards, C Niederberger, eds. *Infertility in the Male*, 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2009.
- Reijo R, Lee TY, Salo P, et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet*. 1995; 10(4): 383-393.
- Tilford CA, Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, et al. A physical map of the human Y chromosome. *Nature*. 2001; 409(6822): 943-945
- Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, et al. The malespecific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*. 2003; 423(6942): 825-837.
- Sadeghi-Nejad H, Oates RD. The Y chromosome and male infertility. *Curr Opin Urol*. 2008;18(6):628-632.
- Repping S, Skaletsky H, Lange J, et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet*. 2002;71(4):906-922.
- Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod*. 2003;18(8):1660-1665.
- Kamischke A, Gromoll J, Simoni M, Behre HM, Nieschlag E. Transmission of a Y chromosomal deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report. *Hum Reprod* 1999, 14: 2320-2322.
- Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. *State of the art* 2004. *Int J Androl* 2004, 27:240-249.
- AUA Guidelines 2010, The Evaluation of the Azoospermic Male: AUA Best Practice Statement, Revised 2010.
- Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2005;10(1):14-41.
- Samli H, Samli MM, Yilmaz E, Imriralioğlu N. Clinical, andrological and genetic characteristics of patients with congenital bilateral absence of vas deferens (CBAVD). *Arch Androl*. 2006;52(6):471-477.
- Bareil C, Guittard C, Altieri JP, Templin C, Claustres M, des Georges M. Comprehensive and rapid genotyping of mutations and haplotypes in congenital bilateral absence of the vas deferens and other cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related disorders. *J Mol Diagn*. 2007;9(5): 582-588.
- Strausbaugh SD, Davis PB. Cystic fibrosis: a review of epidemiology and pathobiology. *Clin Chest Med*. 2007;28(2):279-288.
- Chiang HS, Lu JF, Liu CH, Wu YN, Wu CC. CFTR (TG)m(T)n polymorphism in patients with CBAVD in a population expressing low incidence of cystic fibrosis. *Clin Genet*. 2009;76(3):282-286.
- Tamburino L, Guglielmino A, Venti E, Chamayou S. Molecular analysis of mutations and polymorphisms in the CFTR gene in male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2008;17(1): 27-35.
- Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004, 364:273-283.
- Akslae L, Wikström AM, Rajpert-De Meyts E, Dunkel L, Skakkebaek NE, Juul A. Natural history of seminiferous tubule degeneration in Klinefelter syndrome. *Hum Reprod Update* 2006, 12:39-48.
- Ichioka K, Utsunomiya N, Kohei N, Ueda N, Inoue K, Terai A. Adult onset of declining spermatogenesis in a man with nonmosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril* 2006, 85:1511-1512.
- Terzoli G, Simoni G, Lalatta F, Colucci G, Lobbiani A. Fertility in a 47,XXY patient: assessment of biological paternity by deoxyribonucleic acid fingerprinting. *Fertil Steril* 1992, 58:821-825.
- Meschede D, Lemcke B, Stüssel J, Louwen F, Horst J. Strong preference for non-invasive prenatal diagnosis in women pregnant through intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Prenat Diagn*. 1998 Jul;18(7):700-5.
- Meschede D, Lemcke B, Exeler JR, De Geyter C, Behre HM, Nieschlag E, Horst J. Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection-prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. *Hum Reprod*. 1998 Mar;13(3):576-82.
- Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E (2004) Klinefelter's syndrome. *Lancet* 364:273-283; Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL, Goldstein M, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Success of testicular sperm injection and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90: 6263-6267.
- Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004, 364:273-283.
- Bouayed Abdelmoula N, Portnoi MF, Keskes L, Recan D, Bahloul A, Boudawara T, Saad A, Rebai T. Skewed X-chromosome inactivation pattern in SRY positive XX maleness: A case report and review of literature. *Ann Genet* 2003, 46:11-18;
- Vorona E, Zitzmann M, Gromoll J, Schüring AN, Nieschlag E. Clinical, endocrinological, and epigenetic features of the 46,XX male syndrome, compared with 47,XXY Klinefelter patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, 92: 3458-3465.
- Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, van Steirteghem A, Liebaers I. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 1996, 11 (Suppl 4):1-26.
- Meschede D, Horst J. Indikationen, Möglichkeiten, Grenzen und Perspektiven zytogenetischer Untersuchungen für die Reproduktionsmedizin. *Med Genetik* 1999, 11:365-368.
- Montag M, van der Ven K, Ved S, Schmutzler A, Prietl G, Krebs D, Peschka B, Schwanitz G, Albers P, Haidl G, van der Ven H. Success of intracytoplasmic sperm injection in couples with male and/or female chromosome aberrations. *Hum Reprod* 1997, 12:2635- 2640.
- Meschede D, Louwen F, Eiben B, Horst J. Intracytoplasmic sperm injection pregnancy with fetal trisomy 9p resulting from a balanced paternal translocation. *Hum Reprod* 1997, 12:1913-1914.
- Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996;5:933-943.
- Noordam MJ, Repping S. The human Y chromosome: a masculine chromosome. *Curr Opin Genet Dev* 2006, 16:225-232.
- Repping S, Skaletsky H, Brown L, et al. Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome persists through balance between recurrent mutation and haploid selection. *Nat Genet* 2003 Nov;35(3):247-51.
- Hucklenbroich K, Gromoll J, Heinrich M, Hohoff C, Nieschlag E, Simoni M. Partial deletions in the AZFc region of the Y chromosome occur in men with impaired as well as normal spermatogenesis. *Hum Reprod* 2005, 20:191-197.
- Kühnert B, Gromoll J, Kostova E, Tschanter P, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. Case report: natural transmission of an AZFc Y-chromosomal microdeletion from father to his sons. *Hum Reprod* 2004, 19:886-888.
- Kamischke A, Gromoll J, Simoni M, Behre HM, Nieschlag E. Transmission of a Y chromosomal deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report. *Hum Reprod* 1999, 14:2320-2322.
- Brandell RA, Mielnik A, Liotta D, et al. AZFb deletions predict the

- absence of sperm with testicular sperm extraction: Preliminary report of a prognostic genetic test. *Hum Reprod* 1998;13:2812-2815
46. Kent-First MG, Kol S, Muallem A, et al. Infertility in intracytoplasmic sperm injection-derived sons. *Lancet* 1996;348:332-333.
47. Krausz C, Degl'Innocenti S. Y chromosome and male infertility: update, 2006. *Front Biosci* 2006 Sep;11:3049-61.
48. Donat R, McNeill AS, Fitzpatrick DR, et al. The incidence of cystic fibrosis gene mutations in patients with congenital bilateral absence of the vas deferens in Scotland. *Br J Urol* 1997 Jan;79(1):74-7. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>.
49. Chillon M, Casals T, Mercier B, et al. Mutations in cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *New Engl J Med* 1995 Jun;332(22):1475-80.
50. Oates RD, Amos JA. The genetic basis of congenital absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J Androl* 1994;15:1.
51. Drake MJ, Quinn FM. Absent vas deferens and ipsilateral multicystic dysplastic kidney in a child. *Br J Urol* 1996 May;77(5):756-7.
52. 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*. 2008; 90(1):319).
53. Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC. Clinical characterization of 42 oligospermic or azospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum Reprod*. 2002;17(11):2813-2824.
54. Mulhall JP, Reijo R, Alagappan R, et al. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997 Mar;12(3):503-8.
55. Bojesen A, Gravholt CH. Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol*. 2007;4(4):192-204
56. Yarali H, Polat M, Bozdag G, et al. TESE-ICSI in patients with non-mosaic Klinefelter syndrome: a comparative study. *Reprod Biomed Online*. 2009;18(6):756-760.
57. Lange J, Skaletsky H, van Daalen SK, et al. Isodicentric Y chromosomes and sex disorders as byproducts of homologous recombination that maintains palindromes. *Cell*. 2009;138(5): 855-869.