

Nonobstruktif Azoospermik ve Şiddetli Oligozoospermik Erkeklerde Saptanan Kromozomal Anomaliler

Genetic Anomalies Detected in Patients with Non-Obstructive Azoospermia and Oligozoospermia

Hale ŞAMLI¹, Mustafa SOLAK¹, Necat İMİRZALIOĞLU², M. Murat ŞAMLI³

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Afyonkarahisar

² Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Isparta

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, Afyonkarahisar

ÖZET: Genetik faktörler erkek infertilitesi nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Sayısal ve yapısal kromozomal düzensizliklere, sebebi bilinmeyen oligozoospermik ve azoospermik olgularda sık rastlanmaktadır. Bu çalışmada 1995-2005 yılları arasında infertilite kliniğine başvuran 383 azoospermik ve 436 şiddetli oligozoospermik toplam 819 Türk erkek incelemeye alındı. Bir ay ara ile iki kez spermogram ve basal hormon profilleri (FSH-Testosterone) çalışıldı. Tüm olguların karyogram analizleri yapıldı.

İncelenen 383 azoospermik olgunun 47(%12,3) tanesinde, 436 oligozoospermik olgunun 20(%4,6) tanesinde kromozomal düzensizlik tespit edilmiştir. Azoospermik olgularda tespit edilen kromozomal düzensizliklerin 9(%19,1) tanesi otosomal ve 38(%80,9) tanesi gonozomal kromozomlara ait bulunmuştur. Oligozoospermik olgularda ise tespit edilen kromozomal düzensizliklerin 8(%40) tanesi otosomal, 12(%60) tanesi gonozomal kromozomlara aittir.

Erkekte infertiliteye neden olan genetik nedenlerin belirlenmesi ve yardımcı üreme teknikleri kullanılarak elde edilecek bu bireylere ait çocukların taşıyabilecekleri genetik riskin saptanması amacıyla infertilite kliniğine başvuran azoospermik, oligozoospermik infertil erkeklerde genetik danışma verilmesi ve sitogenetik inceleme yapılması doğru tanının konmasına yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Azoospermia, oligozoospermia, karyogram.

ABSTRACT: Genetic factors have major importance in male infertility etiology. Numerical and structural chromosomal abnormalities seem to be frequent in oligospermia and azoospermia cases with unknown etiology. In this study 819 patients with azoospermia (383) and oligospermia (436) who attended to infertility department between 1995-2005 were evaluated. Spermogram and basic hormone profiles (FSH-Testosterone) were studied two times with one month interval from each patient and all the cases were evaluated cytogenetically.

The 47(12,3%) of 383 azoospermia patients and the 20(4,6%) of 436 oligospermia patients were found to have chromosomal abnormalities. The 9(19,1%) of the chromosomal abnormalities found in azoospermia patients were autosomal and the 38(80,9%) were gonosomal. In oligospermia cases the 8(40%) of the chromosomal abnormalities were autosomal and 12(60%) were gonosomal.

Cytogenetic analysis and genetic counseling would be helpful in infertile males with azoospermia and oligospermia by determining the genetic factors causing infertility and by assessing the genetic risks of the offspring provided by assisted reproductive techniques.

Key Words: Azoospermia, oligospermia, karyotype.

GİRİŞ

Erkek infertilitesinin %40'nın nedeni bilinmemekle birlikte, genetik faktörler bu nedenler arasında önemli bir yer tutmaktadır (1). Sayısal ve yapısal kromozomal düzensizliklere, sebebi bilinmeyen oligozoospermik ve azoospermik olgularda sık rastlandığı bilinmektedir (2). Yapılan çok sayıda çalışmada oligozoospermik ve azoospermik olgularda

kromozomal düzensizlik oranı %2,1-10,3 arasında verilmektedir (3,4). 94 465 yeni doğan erkek çocukta yapılan sitogenetik analiz sonucunda kromozomal düzensizlik oranı %0,38 (%0,14 gonozomal, %0,25 otosomal) olarak bildirilmiştir (4). Başka bir çalışmada ise oligozoospermik olgularda kromozomal düzensizlik oranı %6 verilirken, azoospermik olgularda bu oran %19,6 olarak bildirilmiştir (5).

Genetik düzensizlik oranının oldukça yüksek olduğu bu toplulukta spermatogenez sırasında dengersiz kromozomal kuruluşların oluşması ihtimali yüksektir. Bernardini ve arkadaşları azoospermik olgulara ait sperm örneklerinde kromozomal anomali

oranını %24,9 olarak bildirmişlerdir (6). Fertil erkeklerde ise bu oran %10'dur (4,7-9).

Yardımcı üreme teknikleri azoospermik ve oligozoospermik infertil erkeklere çocuk sahibi olma şansını vermiştir. Yardımcı üreme tekniklerinden biri olan "Intracytoplasmic Sperm İnjesyonu" (ICSI) bu olgularda 1992 den buyana yaygın olarak kullanılmaktadır (10-12).

Genetik düzensizlik oranının oldukça yüksek olduğu bu toplulukta ICSI tekniğinin kullanılmasının paternal genetik düzensizliklerin bir sonraki kuşağa aktarılma olasılığını artıracağını düşündürmektedir (13,14).

Erkeklerde infertiliteye neden olan genetik nedenlerin belirlenmesi ve yardımcı üreme teknikleri kullanılarak elde edilecek bu bireylere ait çocukların taşıyabilecekleri genetik riskin saptanması amacıyla infertilite kliniğine başvuran 819 (383 azoospermik, 436 oligozoospermik) infertil erkekte sitogenetik inceleme yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1995-2005 yılları arasında infertilite kliniğine baş vuran 383 azoospermik ve 436 şiddetli oligozoospermik toplam 819 olgu incelemeye alındı. Kliniğe başvuran tüm olgulardan detaylı anamnez alındı, fizik muayeneleri Üroloji Anabilim Dalı tarafından yapıldıktan sonra bir ay ara ile iki kez spermogram ve basal hormon profilleri (FSH-Testosterone) çalışıldı. Tüm olguların pedigreleri çizilerek genetik danışma verilerinden sonra heparinli enjektörlere 5ml periferik kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden %10 Foetal Calf Serumumu, %2 Phytohemaglutinin (PHA) içeren RPMI-1640 besi yerine ekim yapılarak 72 saat kültüre edildi. Kültür bitiminde harvest işlemleri ve G-T-G bantlama yapılarak genetik incelemeye hazır hale getirilen preparatlar MacKtype 5,6 PowerGene software kullanılarak inceleme yapıldı. Tüm olgulardan 20 metafaz plağı değerlendirildi. Kromozomal düzensizlik tespit edilen olgularda değerlendirilen metafaz plağı sayısı 50'ye tamamlandı.

BULGULAR

İncelenen 383 azoospermik olgunun 47(%12,3) tanesinde, 436 oligozoospermik olgunun 20(%4,6) tanesinde kromozomal düzensizlik tespit edilmiştir.

Azoospermik olgularda tespit edilen kromozomal düzensizliklerin 9(%19,1) tanesi otosomal ve 38(%80,9) tanesi gonozomal kromozomlara ait bulunmuştur (Tablo 1). Oligozoospermik olgularda ise tespit edilen kromozomal düzensizliklerin 8(%40) tanesi otosomal, 12(%60) tanesi gonozomal kromozomlara aittir (Tablo 2).

Tablo 1: İncelenen 383 azoospermik olgunun 47 tanesinde tespit edilen kromozomal düzensizlikler ve polimorfik özellikler.

Olgu sayısı (n)	Otozomal Kromozom Düzensizliği ve Polimorfik Özellikler
1	45,XY,robt(13;14)(q10;q10)
1	45,XY,robt(14;22)(q10;q10)
1	46,XY,21pstk+
1	46,XY,22pstk+
1	46,XY,9qh+
1	46,XY,inv(9)(p12;q13)
1	46,XY, inv(5)(p12;22)
1	46,XY,inv(1)(p12;q13)
1	47,XY+21
Gonozomal Kromozom Düzensizliği	
25	47,XXY
4	46,XY/47,XXY
1	47,XXY/48,XXY,+m
4	47,XXX
1	46,XY/46,X,del(Yqter)
1	46,X,i Y(q10)
1	46,XY/46,X,del(Yp)
1	46,X,del(Yqter)
47	TOPLAM

Tablo 2. İncelenen 436 oligozoospermik olgunun 20 tanesinde tespit edilen kromozomal düzensizlikler ve polimorfik özellikler.

Olgu sayısı (n)	Otozomal Kromozom Düzensizlikleri ve Polimorfik Özellikler
3	45,XY,robt(13;14)(q10;q10)
1	46,XY,inv(9)(p13;q12)
1	46,XY,inv(9)(p13;q22)
1	46,XY,inv(9)(p12;q13)
1	46,XY,t(1;7)(p32;q32)
1	46,XY,t(6;21)(p11.1;p11.1)
Gonozomal Kromozom Düzensizlikleri	
2	47,XXY
2	46,XY/47,XXY
3	47,XXX
1	46,XY/47,XXX
1	47,XXX/48,XXXX
2	46,XY/46,X,del(Yqter)
1	46,X,del(Y)(qter)
20	TOPLAM

Oligozoospermik olgulara bir ay ara ile iki spermogram yapılmıştır. Kromozomal düzensizlik saptanan 20 oligozoospermik olgunun dördünde sanal azoospermia tespit edilmiştir, 15 olguda ise ortalama sperm sayısı $3,22$ milyon/mL \pm $0,91$ milyon/mL (0,1-10, 8M/mL) olarak bulunmuştur, geriye kalan beş olgunun spermogram sonuçları ise Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Oligozoospermik olgulara ait spermogram sonuçları.

Olgu Sayısı (n)	Spermogram	Karyogram
1	2,5 ml, tüm alanda 1 adet immotil sperm	47,XXY
1	3 ml, tüm alanda 2 adet immotil sperm	47,XXY
1	2,2 ml, 2 adet (+2) motil sperm	46,XY/47,XXY
1	2 ml, 2 adet immotil sperm	47, XYY
1	3,5 ml, 1 adet (+3) motil, 3 adet (+2) motil sperm	46,XY/46,X,del(Yqter)

TARTIŞMA

Erkek infertilitesinde genetik nedenlerin önemli ölçüde rol oynadığı son yıllarda yapılan pek çok çalışma ile gösterilmiştir (15-18). Bazı kromozomal düzensizlikler ile erkek infertilitesi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ilk geniş çalışma 6 982 olguluk bir çalışma olup, kromozomal düzensizlik sıklığı %5,3 olarak bildirilmiştir, genel popülasyondaki sıklık ise %0,6 olarak verilmiştir (6,19). Aynı çalışmada gonozomal ve otozomal kromozom düzensizlik oranlarının, genel popülasyona göre sırasıyla 15 kat ve 6 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (6,19).

Yapılan çok sayıda çalışmada azoospermik olgulardaki kromozomal düzensizlik oranı %12,5-31 olarak bildirilmiştir (4,5,20-25). Bu çalışmada ise incelenen 383 non-obstruktif azoospermik olgunun 47(%12,3) tanesinde kromozomal düzensizlik tespit edilmiştir, bunlardan 9(%19,1) tanesi otosomal, 38(%80,9) tanesi gonozomal kromozomlara aittir (Tablo 1). Otozomal kromozomlarda tespit edilen düzensizliklerden ikisi kromozom 13-14 ile kromozom 14-22 arasında izlenen Robertsonian translokasyonudur. Robertsonian translokasyonu infertil erkeklerde, özellikle şiddetli oligozoospermik erkeklerde sık görülen kromozomal

düzensizliklerdir (%1,6), bu düzensizliğin azoospermik erkeklerde %0,09 ve fenotipik normal olan yenidoğan erkeklerde %0,08 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (4,26-28). Azoospermik üç olguda ise 1., 5. ve 9. kromozomlarda inversiyon tespit edilmiştir. Dokuzuncu kromozomun inversiyonu normal polimorfizm olarak kabul edilmektedir (29). Birinci kromozoma ait olan inversiyonun ise spermatogenezise olumsuz etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (30).

Gonozomal kromozom düzensizliğinin tespit edildiği 38(%80,9) azoospermik olgunun 25(%65,8) tanesinde regüler tip Klinifelter sendromu (47,XXY) bulunurken 4(%10,5) olguda mozaik tip Klinifelter sendromu tespit edilmiştir. Çalışmamızda da tespit ettiğimiz gibi (%7,6) Klinefelter sendromu azoospermik olgularda en sık rastlanan gonozomal kromozomal düzensizliktir (4).

Bugüne kadar yapılan çok sayıdaki çalışmada oligozoospermik erkeklerde kromozomal düzensizlik oranı %1,8-6,9 arasında bildirilmiştir (4,5,22,24,25). Bu çalışmada değerlendirilen 436 oligozoospermik olgunun 20(%4,6) tanesinde kromozomal düzensizlik tespit edilmiştir (Tablo 2). Elde edilen sonuç literatürle uyumludur. Saptanan bu düzensizliklerin 8(%40) tanesi otozomal, 12(%60) tanesi gonozomal kromozomlara aittir. Üç(%0,7) olguda normal polimorfizm kabul edilen dokuzuncu kromozoma ait inversiyon (29,32), üç(%0,7) olguda 13-14 Robertsonian translokasyonu, iki(%0,5) olguda otozomal kromozomlara ait resiprokal translokasyon bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada oligozoospermik olgularda otozomal kromozomlara ait resiprokal translokasyon sıklığı %0,6 olarak bildirilmiştir (4). Gonozomal kromozom düzensizliği saptanan 12 oligozoospermik olgunun 4(%0,9) tanesinde Klinefelter sendromu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada oligozoospermik erkeklerde 47,XXY kromozom kuruluşuna rastlanma sıklığı %0,7 olarak verilmiştir (32).

Azoospermik ve oligozoospermik erkeklerden oluşan çalışma grubumuzda 27 olguda klasik Klinefelter sendromu, 7 olguda mozaik Klinefelter sendromu tespit edilmiştir. Klasik Klinefelter sendromunu iki(%7,4) olgunun ve mozaik Klinefelter sendromlu, bir(%14,3) olgunun ejakulatında immotil spermme rastlanmıştır (Tablo 3). Ejakulatında sperm saptanan iki Klasik Klinefelter sendromulu olgunun kan kültürü tekrar-

lanmıştır, değerlendirilen metafaz sayısı artırılarak 100'e çıkarılmıştır fakat mozaizme rastlanmamıştır. Başka bir çalışmada klasik Klinefelter olgularının ejakulatlarında sperm bulunma sıklığı %0,7 olarak verilmiştir (33).

Kromozomal düzensizliklerin çok sık rastlandığı bu bireylerden dengesiz genetik yapıya sahip gametlerin oluşma ihtimali yüksektir (6). Bu gametler yardımcı üreme teknikleri sayesinde ovumu dölemekte kullanılabilir. İşte tüm bu sebeplerden dolayı yardımcı üreme teknikleri için başvuran çiftlere genetik danışma verilmeli, pedigreleri çizilmeli ve aralarında genetik testlerinde bulunduğu çeşitli laboratuvar incelemeleri rutin yapılan işlemler halinde olmalıdır (34). İnfertilite kliniklerine başvuran çiftlere genetik danışma verilmesinin kesin ve doğru tanın konmasında gerekli olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- de Kretser DM. Male infertility. *Lancet*, 1997; 349:787-90.
- Chandley A. Chromosome anomalies and Y chromosome microdeletions as casual factors in male infertility. *Hum. Reprod*, 1998; 13, 45-50.
- Koulischer L, Schoysman R. Chromosomes and human infertility. I. Mitotic and meiotic chromosome studies in 202 consecutive male patients. *Clin. Genet*, 1974; 5:116-26.
- Vann Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, et al. Cytogenetics of infertile men . In: Steirteghem AV, Devroey P, and Liebaers I, editors. *Genetics and Assisted Human Conception*. *Hum Reprod*, 1996; (11) 4:1-24.
- Chandley A.C. Chromosomal basis of human infertility. *Br Med Bull*, 1979; 35(18):1-186.
- Chiang, H. S., Liu, C.H., Tzeng, C. R., et al. Surgical and pathologic observations of epididymal tubules during microscopic epididymal sperm aspiration for intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Formos Medicine Association*, 1998; 97, 838-844.
- Brandriff B, Gordon L, Ashworth L, et al., Chromosomes of human sperm: variability among normal individuals. *Hum Genet*, 1985; 70, 18-24.
- Kamiguchi Y, Mikamo K. An improved efficient method for analyzing human sperm chromosomes using zona-free hamster ova. *Am J Hum Genet*, 1986; 38, 724-740.
- Martin RH, Rademaker AW, Hildebrand K, et al. Variation in the frequency and type of sperm chromosomal abnormalities among normal men. *Hum Genet*, 1987, 77, 108-114.
- Chandley AC, Gosden JR, Hargreave TB, et al. Deleted Yq in the sterile son of a man with a satellited Y chromosome (Yqs). *Journal of Medicinal Genetics*, 1989; 26, 145.
- Chandley AC, Coke HJ. Human male infertility-Y-linked genes and spermatogenesis. *Human Molecular Genetics*, 1994; 3, 1449-1452.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 1992; 340:17-18.
- Cummins JM, Jequier AM. Treating male infertility needs more clinical andrology, not less. *Hum Reprod*, 1994; 9:1214-9.
- Bhasin S, DeKretser DM, Baker HWG. Clinical review 64, pathophysiology and natural history of male infertility. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994; 79:1525-9.
- Kleiman SE, Yogev L, Gamzu R, et al. Genetic evaluation of infertile men. *Hum Reprod*, 1999; (14)1:33-38.
- Peschka B, Leygraaf J, Van der Ven K, et al. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1999 Sep;14(9):2257-63.
- Egozcue S, Blanco J, Vendrell JM, et al. Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update*. 2000 Jan-Feb;6(1):93-105.
- Abramsson L, Beckman G, Duchek M, et al. Chromosomal aberrations and male infertility. *J Urol*. 1982 Jul;128(1):52-3.
- Kjessler B. Chromosomal constitution and male reproductive failure. In Mancini, R.E. and Martini, L. (eds) *Male fertility and sterility*. Academic Press, New York, USA, 231-247, 1974.
- Basaran S, Engur A, Aytan M, et al. The Results of Cytogenetic Analysis with Regard to Intracytoplasmic Sperm Injection in Males, Females and Fetuses. *Fetal Diagn Ther* 2004;19:313-318.
- Palermo GD, Colombero LT, Harisprashad JJ, et al. Chromosome analysis of epydidymal and testicular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. *Hum Reprod*, 2002;(17)3:570-575.
- Lee S, Kim NK, Kim HJ, et al. Genetic analysis of three polymorphic sites of the luteinizing hormone beta-subunit gene in infertile Korean men with nonobstructive azoospermia. *Fertil Steril*, 2003; 79(3): 517-21.

23. Rivas F, Garcia-Esquivel L, Diaz M, et al. Cytogenetic evaluation of 163 azoospermics. *Journale de Génétique Humaine*, 1987; 35, 291-298.
24. Bourrouillou G, Dastugue N, Colombies P. Chromosome studies in 952 males with a sperm count below 10 million/ml. *Human Genetics*, 1985; 71, 366-367.
25. Retief AE, Van Zyl JA, Menkveld R, Fox M F, et al. Chromosome studies in 496 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Human Genetics*, 1984; 66,162-164.
26. De Braekeleer M, Dao T. Cytogenetics studies in male infertility: a review. *Hum Reprod*, 1991; 6:245-250.
27. Penna Videau S, Araujo H, Ballesta F, et al. Chromosomal Abnormalities and Polymorphisms in Infertile Men. *Archives of Andrology*, 2001; 46:205-210.
28. KCourt-Brown WM, Jacobs P, Brunton M. Chromosome studies on randomly chosen men and women. *Lancet*, 1965;561-562.
29. Chandley AC, Mc Beath S, Speed RM. Pericentric inversion in human chromosome 1 and the risk for male sterility. *J Med Genet*, 1987; 24:325-34.
30. Colls P, Blanco J, Martínez-Pasarell O, et al. Chromosome segregation in a man heterozygous for a pericentric inversion, inv(9)(p11q13), analyzed by using sperm karyotyping and two-color fluorescent in situ hybridization. *Hum Genet*, 1997; 99:761-765.
31. Huynh T, Mollard R, Trounson A. Selected genetic factors associated with male infertility. *Hum Reprod Update*, 2002; (8):2,183-198.
32. Okada H, Fujioka H, Tatsumi N, et al. Klinefelter's syndrome in the male infertility clinic. *Hum Reprod*,1999;14:946-952.
33. Dohle GR, Halley DJJ, Van Hemel JO, et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Hum Reprod*, 2002;(17):1,13-16.
34. WHO (1992) World Health Organisation laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

