ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AZOSPERMİDE IRAKLI HASTALARDA Y-KROMOZOM GENLERİNİN VE İMMÜNOLOJİK BELİRTEÇLERİN POLİMORFİZMİ

Mustafa Nadheer Khamees AL-ANI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Mustafa Nadheer Khamees AL-ANI tarafından hazırlanan **"Azospermide Iraklı Hastalarda Y-Kromozom Genlerinin ve İmmünolojik Belirteçlerin Polimorfizmi"** adlı tez çalışması 10/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalıda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Basem Shehab AHMED

Jüri Üyeleri **:**

Başkan **:**Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Aysel SARI
Kimya Anabilim Dalı
Fırat Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Azospermide Iraklı Hastalarda Y-Kromozom Genlerinin ve İmmünolojik Belirteçlerin Polimorfizmi**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (10/02/2023).

Mustafa Nadheer Khamees AL-ANI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AZOSPERMİDE IRAKLI HASTALARDA Y-KROMOZOM GENLERİNİN VE İMMÜNOLOJİK BELİRTEÇLERİN POLİMORFİZMİ

Mustafa Nadheer Khamees AL-ANI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Basem Shehab AHMED

Bu çalışmada, Bağdat Valiliği'ndeki Yarmouk Hastanesi, Babel Valiliği'ndeki Babel Hastanesi, AL-Anbar Valiliği'ndeki AL-Safwa Hastanesi ve özel laboratuvarlardaki infertilite laboratuvarlarından yaşları 21-40 arasında değişen 100 erkekten kan örneği toplanarak yapılmıştır. Toplanan örneklerin, Y kromozomu mikrodelesyonlarının yoğunluğuna bakılmıştır. Kontrol grubu, Azospermi olmayan 50 erkekten oluşmakla beraber diğer 50 erkek, hibridizasyon polimeraz zincir reaksiyonu ile Azospermi ile enfekte edilmiştir. Bu çalışmada immünolojik belirteçler (IL-6 ve IL-1beta) kullanılmış ve Y kromozomu azospermi faktörleri (AZF) mikrodelesyonları ile bir korelasyon olup olmadığına bakılmıştır. Y kromozomunda, AZFc delesyonlarının Y kromozomundaki AZFa ve AZFb mikrodelesyonlarından daha yaygın olduğunu bulunmuştur. Mevcut çalışmada, Interlökin-6 (IL-6) ile Y Kromozomu mikrodelesyonu arasında bir korelasyon söz konusu değilken, Interlökin-1 beta (IL-1Beta) ile Y Kromozomu mikrodelesyonu arasında bir korelasyon vardır.

2023, 52 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Erkek infertilitesi, Azospermi faktör bölgesi, Y kromozomu mikrodelesyonu, Seminal sıvı, İnterlökin-6

ABSTRACT

Master of Science Thesis

THE POLYMORPHISM OF Y-CHROMOSOME GENES AND IMMUNOLOGICAL MARKERS IN IRAQI PATIENTS IN AZOOSPERMIA

Mustafa Nadheer Khamees AL-ANI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Basem Shehab AHMED

In this study, Blood samples were collected from 100 men between the ages of 21-40 from Yarmouk Hospital in Baghdad Governorate, Babel Hospital in Babel Governorate, AL-Safwa Hospital in AL-Anbar Governorate and infertility laboratories in private laboratories. The density of Y chromosome microdeletions in the collected samples was examined. The control group consisted of 50 men without Azoospermia, along with 50 other men infected with Azoospermia by hybridization polymerase chain reaction. In this study, immunological markers (IL-6 and IL-1beta) were used and it was examined whether there was a correlation with Y chromosome azoospermia factors (AZF) microdeletions. On the Y chromosome, AZFc deletions were found to be more common than AZFa and AZFb microdeletions on the Y chromosome. In the current study, while there is no correlation between Interleukin-6 (IL-6) and Y Chromosome microdeletion, there is a correlation between Interleukin-1 beta (IL-1Beta) and Y Chromosome microdeletion.

2023, 52 pages

Keywords: Male infertility, Azoospermia factor region, Y chromosome microdeletion, Seminal fluid, Interleukin-6

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Prof. Dr Seçil AKILLI ŞİMŞEK'e yüksek lisans tezimin her aşamasındaki değerli yardımları ve ilgisi için teşekkür eder

Mustafa Nadheer KHAMEES AL-ANI

Çankırı, Ocak 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Erkek İnfertilitesi **4**
2.2 DNA **7**
2.3 Kromozom **8**
2.4 İnsan Spermatogenezi **9**
2.5 İnsan Y Kromozom Geni **10**
2.5.1 Y- kromozomu **11**
2.5.2 Y kromozomu mikrodelesyonu'lerin iletim özellikleri **11**
2.5.3 Y- kromozom harita delesyonu **12**
2.6 Sperm **14**
2.6.1 Spermin anatomisi **14**
2.7 İnsan Seminal Sıvısı **15**
2.8 Azospermi **15**
2.8.1 Azospermi faktörü (AZF) **15**
2.9 Y Kromozomu Mikrodelesyon Türleri **16**
2.10 Azospermide Delete Edilmiş (DAZ) **16**
2.11 Azosperminin Nedenleri **17**
2.12 Azosperminin Belirtileri **18**
2.13 Azospermi Tanısı **18**
2.13.1 Tıbbi arka plan **19**
2.13.2 Spermin incelenmesi **19**
2.13.3 Genetik analiz **19**

2.14 Erkek İnfertilitesinin Tedavisinde Çeşitli Yöntemler 20
2.14.1 İnterlökinlerin genel özellikleri.....20
2.14.2 İnterlökin -6 ve erkek infertilitesi.....21
2.14.3 İnterlökin -1 beta ve erkek infertilitesi.....21
3. MATERYAL VE METOT 23
3.1 Çalışma Süresi 23
3.2 Yöntem..... 23
3.2.1 Gen testi 24
3.2.2 Sağlanan reaktifler ve malzemeler.....27
3.3 Serolojik Testler 28
3.3.1 ELISA tekniği ile interlökin -6 (IL-6) tespiti.....28
3.3.2 ELISA tekniği kullanılarak interlökin -6 (IL-1beta) tespiti 31
3.4 İstatistiksel Analiz..... 32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 33
4.1 ÖrneklemeÇalışmasının Yerleşim Yerine Göre Dağılımı 33
4.2 ÖrneklemeÇalışmasında Hasta Grubunun Vilayetlere Göre Dağılımı..... 34
4.3 ÖrneklemeÇalışmasının Hasta Grubunun Kronik Hastalık Öyküsüne Göre Dağılımı 34
4.4 Örnekleme ÇalışmasınınAzospermi Tanı Yöntemlerine Göre Hasta Grubu Dağılımı 34
4.5 ÖrneklemeÇalışmasınında Azospermi Bölgesine Göre Hasta Gruplarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı 35
4.6 ÖrneklemeÇalışmasının Azospermi Bölgesine ve Vilayetlere Göre Dağılımı . 36
4.7 IL-1β'de Hastalar ve Kontrol Grupları Arasında Örnekleme Çalışmasının Dağılımı 36
4.8 Il-6'da Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Örnekleme Çalışmasının Dağılımı 37
4.9 IL-1β ve IL-6'da Hasta ve Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması 37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 42
KAYNAKLAR 43
EKLER.....50
ÖZGEÇMİŞ.....52

SİMGELER DİZİNİ

µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AZF	Azospermi faktörü
AZFa	Azospermi faktör A
AZFb	Azospermi faktör B
AZFc	Azospermi faktör C
CNVs	Numara varyasyonlarını kopyalayın
DAZLA	Azospermi otozomal gibi silindi
DBY	Ölü kutu Y kromozomu
DBY	Y bağlantılı chromo etki alanı proteini
DNA	Deoksiribonükleik asit
EAA	Avrupa androloji akademisi
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
ICSI	Intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
IL-1B	İnterlökin-1 beta
IL-6	İnterlökin-6
IVF	Tüp bebek
Kb	Kilobaz çiftleri
mRNA	Haberci ribonükleik asit
MSY	Erkeklere özel bölge
NRY	Y'nin yeniden birleşmeyen bölgesi
PARs	Sözde otozomal bölgeler
PCR	Polimeraz zincirleme reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
RPS4Y1	Ribozomal protein s4, y-bağlı transkripsiyon faktörü
SCOs	Sertoli-cell only sendromu
Sol	Çözelti
SRY	Cinsiyet ters Y
STS	Dizi etiketli site
TDF	Testis belirleyici faktör
TNF	Tümör nekroz faktörü alfa
USP9Y	Ubiquitin spesifik peptidaz y-bağlı
YCM	Y kromozom mikrodelesyonu
Yq	Y kromozomu (uzun kol)
ZFX	Çinko parmak X bölgesi
ZFY	Çinko parmak Y bölgesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 DNA'nın yapısı (Roushan *et al.* 2014) 8
Şekil 2.2 A,B,C, ve D AZF lokuslarının, ilgili genlerin ve STS göstergelerini, insan Y kromozomunun bir diyagramında gösterilmesi (Yu *et al.* 2015) 11
Şekil 2.3 Y kromozomu Mikrodelesyon aralığı (Kun *et al.* 2000) 13
Şekil 2.4 Sperm Tanımı (Du Plessis *et al.* 2011) 14
Şekil 3.1 PCR hazırlık şeması (Operondx 2016) 27
Şekil 3.2 Şerit geliştirme şeması (Operondx 2016) 28
Şekil 3.3 Standart çözelti dilüsyonu 30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Sağlanan reaktifler ve malzemeler 28
Çizelge 3.2 Reaktifler ve malzemeler 29
Çizelge 3.3 Sağlanan reaktifler ve malzemeler 32
Çizelge 4.1 Örnekleme yapılan deneklerin yaş grubuna göre dağılımı 33
Çizelge 4.2 Örnekleme çalışmasının yerleşim yerine göre dağılımı 33
Çizelge 4.3 Örnekleme çalışmasında hasta grubunun vilayetlere göre dağılımı 34
Çizelge 4.4 Örnekleme çalışmasının hasta grubunun kronik hastalık öyküsüne göre dağılımı 34
Çizelge 4.5 Örnekleme çalışmasının azospermi tanı yöntemlerine göre hasta grubu dağılımı 35
Çizelge 4.6 Örnekleme çalışmasında azospermi bölgesine göre hasta gruplarının yaş gruplarına göre dağılımı 35
Çizelge 4.7 Örnekleme çalışmasının azospermi bölgesine ve vilayetlere göre dağılımı 36
Çizelge 4.8 IL-1β'de hastalar ve kontrol grupları arasında örnekleme çalışmasının dağılımı 36
Çizelge 4.9 IL-6'da hasta ve kontrol grupları arasında örnekleme çalışmasının dağılımı 37
Çizelge 4.10 IL-1β ve IL-6'da hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması and IL-6 37

1. GİRİŞ

Kısırlık, çocuk arayan çiftlerin yaklaşık %10 ila %20'sini etkilediği için Arap dünyasının en ciddi halk sağlığı sorunlarından biridir. Bu vakaların %50'sinde infertiliteden erkek sorumludur (Shaqalaih *et al*. 2009).

Normal testis gelişimi için gerekli olan genetik materyal, spermatogenez sırasında Y kromozomunun delesyonlara duyarlı uzun kolunun (Yq) kendi kendine rekombinasyona eğilimli olduğu keşfedilmiştir.İnfertil erkeklerin genel popülasyona göre önemli ölçüde daha yüksek bu delesyon insidansına sahip olduğu keşfedilmiştir (Subrini and Turner 2021). İnsan Y kromozomunun biri kısa (Yp) diğeri uzun (Yq) olmak üzere iki kolu vardır. Sitogenetik analiz, ökromatik, heterokromatik ve psödootozomal bölgeler (PAR1 ve PAR2 dahil) dahil olmak üzere birkaç farklı Y kromozomu bölgesi tanımlamıştır. İki otozomal bölge, kromozomun yaklaşık %5'ini oluşturmakta olup, telomerik uçlarında bulunur. Uzun kolun distal kısmı (Yq12) heterokromatinden yapılırken, Yp ve Yq11 bölgeleri erkeklere özgü bir bölge olan ökromatinden oluşmaktadır(Jarvis *et al*. 2022).

Erkek infertilitesi, erkek infertilitesinin (ejakülatta tamamen sperm yokluğu) en yaygın nedenlerinden biri olan azospermi faktörü (AZF) bölgesindeki Y kromozomu mikrodelesyonlarıyla bağlantılıdır. İnfertil erkeklerde, azospermi faktörü (AZF) mikrodelesyonları AZFa, AZFb ve AZFc en yaygın üç Y mikrodelesyonudur (Ambulkar *et al*. 2014).

Bu çalışmanın amacı, azospermi vakalarında erkek infertilitesinin moleküler arka planını belirlemek için hibridizasyon PCR'yi kullanmaktır. 100 örnekte, Y kromozomu mikrodelesyonlarının yoğunluğuna bakılmıştır. Kontrol grubu, Azospermisi olmayan 50 erkekten ve vaka grubu, hibridizasyon polimeraz zincir reaksiyonu ile Azospermi ile enfekte olan diğer 50 erkekten oluşmaktadır. Bu çalışmada immünolojik belirteçler (IL-6 VE IL-1beta) kullanılmış olup, Y kromozomu azospermi faktörleri (AZF) mikrodelesyonları ile korelasyon olup olmadığına bakılmıştır(Seshadri *et al*. 2009).

Bu çalışma, toplumumuzda kalıtsal erkek infertilitesi prevalansı hakkında temel bilgileri oluşturmayı ve Irak toplumunda azoospermili infertil hastalarda Y kromozomundaki küçük delesyon prevalansını tahmin etmeyi amaçlamaktadır. Çalışma ayrıca Irak popülasyonunda azospermi faktörünün üç bölgesinde Y kromozomunun en yüksek silinme bölgesini belirlemeyi amaçlamaktadır. Bu çalışma aynı zamanda Irak Y kromozomunun Y kromozomu silinmesine en duyarlı olan haplogrupunun belirlenmesini amaçlamaktadır. Bu çalışma ayrıca Irak'ın farklı bölgelerinde mikrodelesyon prevalansı arasında bir korelasyon olup olmadığını ve Y kromozomunun mikrodelesyonu ile Interleukin-6 ve interlökin-1 gibi immünolojik belirteçler arasında bir ilişki olup olmadığını ortaya koymak için gerçekleştirmektir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

İnfertilite, bir yıl korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebe kalamama olarak tanımlanmaktadır. Bu sorun dünya çapında evli çiftlerin yaklaşık %10 ila %20'sini etkilemekte olup, erkek infertilitesi vakaların %30 ila %50'sini oluşturmaktadır (Yu*et al*.2015). İnsan spermatogenezi, spermatogonia'nın mitotik bölünmesiyle başlayan karmaşık bir biyolojik süreç olup (Zhang *et al*. 2013), daha sonra spermatogenezden geçen birincil spermatositlerle sonuçlanır. Mayotik döngünün ilk bölümü, ikincil spermatositlerle sonuçlanmaktadır. Bu ikincil spermatositler, ikinci bir mayoz döngüsünden sonra yuvarlak spermatitler olarak bilinen haploid hücreler üretir(Colaco and Modi 2018). Uzamış spermatidler daha sonra oluşur ve sonunda olgun spermatozoaya dönüşür. İnfertiliteye yol açabilecek iyi bilinen risk faktörleri şunlardır: sigara içmek,varikosel,genital enfeksiyon,anatomik anormallikler,immünolojik faktörler(Al-*Janabi et al.* 2020).

Erkek infertilitesinin etiyolojisinde immünolojik faktörler rol oynamaktadır. İnterlökin, bağışıklık, hematopoez, inflamasyon ve onkogenezde düzenleyici roller gibi çoklu fonksiyonlara sahip en önemli proinflamatuar, sitokin ve antiinflamatuar proteinlerden biri olarak kabul edilmektedir (Hachim*et al*. 2015).

İnterlökin, doku immünolojik koruması için önemli olan lokal lenfosit fonksiyonlarını düzenlemek için de gerekli olabilir. Genetik faktörlerin erkek infertilitesinde önemli roller oynadığı iyi bilinmektedir ve Y kromozomu mutasyonları özellikle önemlidir (Suganthi*et al*. 2014). Kromozom anormallikleri ve Y kromozomal mikrodelesyonları (YCM'ler) erkek infertilitesinde en sık görülen genetik faktörlerdir (Yu *et al*.2015).

Tiepolo ve Zuffardi, faktörlerin (azoospermi faktörleri) spermatogenez için gerekli olduğunu ve Yq'nun ökromatik bölgesinde bulunduğunu işaret ederek, çeyrek yüzyıl önce karyotip analizinde Y kromozomunun (Yq) uzun kolunun büyük terminal delesyonlarının olduğunu keşfetmişlerdir. YCM'ler azoospermik hastaların yaklaşık %10 ila %15'inde ve en yaygın olarak azospermi faktöründe (AZF) bulunur. Uzun Y kolunda (Yq11), Yq11.23 bölgelerinde lokusta bir spermatogenez lokusu keşfedilmiştir.

Azospermi, ejakülatta sperm olmamasıdır. Sperm iletim sorunları sonucu oluşan obstrüktif azospermi [OA] veya anormal sperm üretimi sonucu oluşan nonobstrüktif azospermi olarak sınıflandırılabilir. AZF lokusu AZFa, AZFb ve AZFc ve olası bir dördüncü AZFd bölgesi olmak üzere üç (muhtemelen dört) alt bölgeye ayrılmıştır(Vineeth and Malini2011).

AZF Mikrodelesyonunun moleküler çalışması, infertilite erkeklerin tanı ve tedavisinde bir dönüm noktası olarak kabul edilir. Delesyon tespiti ve genetik danışmanlık, IVF (in-vitro fertilizasyon) prosedürünün önemli bir parçası haline gelmiştir. PCR hibridizasyon teknolojisinin kullanımını kolaylaştırmak için Y kromozomu, dizi etiketli siteler (STS) olarak bilinen kırk üç polimorfik olmayan tek parçaya bölünmüştür. Silmelerin yorumlanmasına yardımcı olmak için bu STS, bilinen PCR ürünlerine sahip spesifik primerler ile temsil edilir. Bu bölgelerdeki mikrodelesyonlar, değişen derecelerde spermatogenetik başarısızlığa neden olur; bununla birlikte, AZF gen fonksiyonu ve AZF lokusunda mikrodelesyonlar ile infertilite arasındaki kesin genotip-fenotip ilişkisi tam olarak araştırılmamıştır. Laboratuvarda AZF mikrodelesyonlarının teşhisi için altın standart yöntem bir hibridizasyon polimeraz zincir reaksiyonudur(Yu*et al*. 2015).

2.1 Erkek İnfertilitesi

Erkek fertilitesi, sperm kromozomları yumurtanınkilerle birleştiğinde ortaya çıkan ve bir zigot oluşumuyla sonuçlanan spermin yumurtayı dölleme yeteneği olarak tanımlanır. Neredeyse her yedi çiftten biri infertilitedir. Bir çiftte infertilite sıklıkla, bir yıllık sık, korunma olmadan cinsel aktiviteden sonra gebe kalmanın kısıtlanması olarak tanımlanır (Barratt *et al*.2017). Bu halk sağlığı sorunu (infertilite) dünyanın tüm bölgelerini etkilemekte olup, prevalansı %10 ile %30 arasındadır. Evli çiftlerin yaklaşık %15'i bu kriteri karşılar ve infertil olarak kabul edilir (Brugo-Olmedo *et al*.2001).

Kontrasepsiyon kullanmayan çiftlerin yüzde 80'inde gebe kalma 12 ay içinde gerçekleşir. Kadın nedenlerinin dışlanmasının ardından erkek infertilite vakalarının çoğuna spermatogenezi ve sperm kalitesini etkileyen çeşitli faktörler neden olmaktadır. Erkek cinsiyet hücrelerinin üretildiği süreç, spermatogenez olarak bilinir ve bu

aşamaların herhangi birindeki problemler infertiliteye yol açabilir. Erkeklerin fertilitesi büyük ölçüde sayı, kalite, hareketlilik, sperm konsantrasyonu (örneğin, oligospermi [çok az sperm], azospermi [ejakülatta sperm yok] ve spermin morfolojisi tarafından belirlenir ve bu faktörlerden herhangi birinin bozulması erkeklerde infertiliteye neden olur. Erkek faktörü koşullarının tüm çift infertilite vakalarının yaklaşık üçte birini oluşturduğu tahmin edilmekte olup, kromozom anomalileri ve bunların %9'unu Y kromozom mikrodelesyonu oluşturmaktadır (Krausz *et al.*2011).

Bu konsept, erkek faktörü infertilitesini altında yatan potansiyel nedenlerin kapsamlı bir şekilde incelenmesine olanak sağlamaktadır. Erkek infertilitesi, bu çiftlerin yarısına kadar en azından küçük bir rol oynar. İnfertil erkeklerde yüksek düzeyde karyotipik anormallikler varolmakla beraber, CNV'ler, tek gen mutasyonları veya polimorfizmleri ve Y kromozomunun uzun kolundaki delesyonlar [Yq mikrodelesyonları], tümü gen kopya sayısı varyasyonlarının örnekleridir. Bu genetik anormallikler, erkek gonadlarının veya ürogenital sistemin büyümesini engeller, germ hücrelerinin oluşumunu ve/veya olgunlaşmasını durdurur veya işlevsel olmayan spermatozoalara yol açar(Mitra *et al.* 2006).

Erkek infertilitesine çeşitli faktörler neden olur. Erkek infertilite modelleri bölgeler arasında ve hatta bölgeler içinde büyük farklılıklar göstermektedir. Göreceli olarak bu varyasyonun sosyal alışkanlıklar, çevresel faktörler ve genetiğin bir kombinasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir(Telöken *et al*. 2012). Bunlardan en yaygın olanı karyotipik anormallikler ve Yq mikrodelesyonlarıdır.

Kromozom bozuklukları,bir erkeğin, (bir X ve bir Y yerine) iki X kromozomu ve bir Y kromozomu ile doğduğu Klinefelter sendromu gibi kalıtsal bozukluklar, erkek üreme organlarının anormal gelişimine neden olur. Kistik fibroz ve Kallmann sendromu, infertilite bağlantılı diğer iki genetik sendromdur (Aston *et al*. 2015).Y Kromozomu mikrodelesyon sendromu, klinefelter Sendromundan sonra, infertil erkeklerde en sık görülen genetik anormallik nedeni Y kromozom mikrodelesyonlarıdır. Mikrodelesyonlar, mikroskop altında görülemeyen Y kromozomunun (Yq) uzun kolunun küçük delesyonlarıdır (Mitra *et al*. 2006).

1996'da bilim adamları, Yq kolunun azospermi faktörü (AZF) bölgesini genetik olarak haritalamışlardır. Şiddetli oligozoospermi veya azospermisi olan erkeklerde bu bölgede delesyonlar söz konusudur. AZF lokusu, spermatogenez için gerekli olan 14 protein kodlayan gen içermektedir. Bu genler üç farklı lokasyonda (AZFa, AZFb ve AZFc) organize edilmiştir. Bu bölgelerin her biri tek başına veya kombinasyon halinde silinebilir ve obstrüktif olmayan azospermisi olan erkeklerin %10'unda kusurlu spermatogenez nedenidir. Yardımcı üreme teknolojilerindeki (ART) muazzam ilerlemeyle, tıpkı tüp bebekte olduğu gibi, azospermik erkekler bile artık intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu ve testiküler sperm ekstraksiyonu sayesinde üreme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, bu teknikler Y kromozomu mikrodelesyonlarının önemini artırmıştır (Raman ve Schlegel 2003).

Varikosel, testisleri boşaltan damarların büyüdüğü bir durumdur. Varikosel, kesin nedeni bilinmemekle birlikte anormal kan akışından kaynaklanabilir. Erkek infertilitesinin en yaygın nedeni olup fertilite tedavileri bu durumu değiştirebilir(Sasson *et al*. 2020). Enfeksiyon,gonore veya HIV gibi cinsel yolla bulaşan bazı enfeksiyonlar, testislerin (orşit) veya epididimin (epididimit) iltihaplanmasına neden olabilir. Buna rağmen, sperm genellikle bu enfeksiyonlardan etkilendikten sonra geri kazanılabilir(Rupp and Leslie 2022). Boşalma sorunları, retrograd boşalma, orgazm sırasında spermin penisin ucundan çıkması yerine mesaneye girmesiyle oluşur. Geriye doğru boşalma, diyabet, omurilik yaralanmaları, ilaçlar ve mesane, prostat veya üretral cerrahi dahil olmak üzere çeşitli sağlık durumlarından kaynaklanabilir(Rauchfuss *et al*. 2021).

Sperme saldıran antikorlar,spermi tehlikeli davetsiz misafirlerle karıştıran ve onları yok etmeye çalışan bağışıklık sistemi hücreleridir. Tümörler,tümörleri tedavi etmek için kullanılan cerrahi, radyasyon veya kemoterapi tedavisi de erkek fertilitesini etkileyebilir(Vakalopoulos *et al*. 2015).

Hormon dengesizlikleri,infertiliteye, testislerdeki problemler veya hipotalamus, hipofiz, tiroid veya adrenal bezler gibi başka bir hormonal sistemdeki problemler, düşük

testosteron düzeyleri (erkek hipogonadizmi) ve diğer hormonal sorunlar neden olabilir (Castinetti*et al*.2015).

Sperm taşıma kanallarındaki kusurlar,sperm, bloke olabilen çeşitli tüplerde taşınır. Tıkalı tüpler arasında testis, epididim, vas deferens ve üretra bulunur. Tüplerin tıkanması, yaralanma, hasar veya kistik fibroz gibi doğal olmayan büyümeden kaynaklanabilir(Hayon *et al*. 2021). Önceki ameliyatlar,vazektomi, skrotal veya testis ameliyatı, prostat ameliyatı veya testis veya rektum kanseri için büyük karın ameliyatı geçirdikten sonra ejakülatta sperm olmayabilir(Sadeghi 2020).

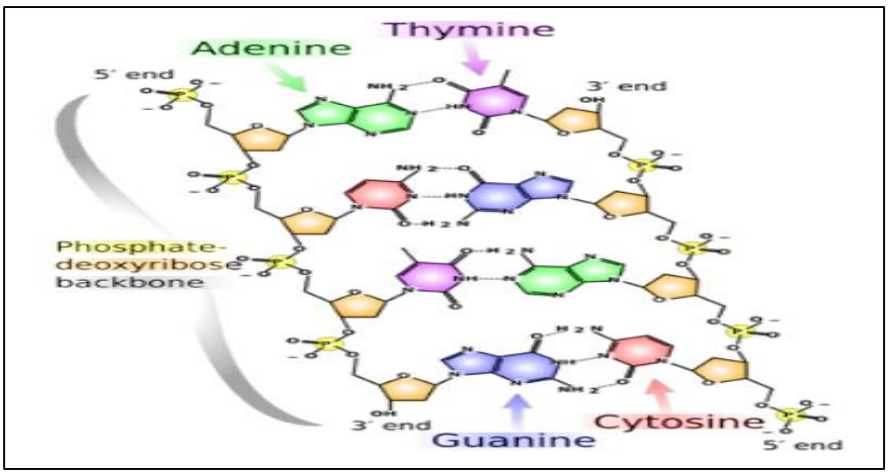
Diğer çevresel faktörlerin yanı sıra ısı, toksinler ve kimyasallar sperm üretimini veya amacını azaltabilir. Belirli nedenler arasında;sanayide kullanılan kimyasallar, aşırı metal maruziyeti, X-ışınları veya radyasyon, testiküler aşırı ısınma sayılabilir. Erkek infertilitesinin en belirgin belirtisi çocuk sahibi olamamaktır. Bunun dışında ek net semptomlar veya işaretler olmayabilir:Ereksiyonu sürdürmede güçlükler, idrar yapamama veya sadece az miktarda sıvı boşaltma (erektil disfonksiyon).Testis bölgesinde ağrı ve şişlik.Normalden daha düşük bir sperm sayısı (mililitre meni başına 15 milyondan az veya ejakülat başına toplam sperm sayısı 39 milyondan az)(Skakkebaek *et al*.2016).

2.2 DNA

Deoksiribonükleik asit olarak da tanımlanan DNA, bir organizmanın genetik yapısının kabaca tamamını oluşturmaktadır. DNA olarak bilinen genetik madde, bireyin vücudundaki her hücre için yapı taşları görevi görür(Dong *et al*. 2020). Hücrelerdeki DNA'nın çoğunluğunu oluşturan nükleer DNA, mitokondride de az miktarda ifade edilir. Mitokondri adı verilen hücre bileşenleri, besin enerjisini hücresel enerjiye dönüştürür. Bilinen tüm yaşam biçimleri, dört ana makromolekül türünden biri olan nükleik asitlere bağlıdır. Bir çift sarmal oluşturmak ve hücrenin genetik kodunu taşımak için birbirinin etrafına dolanan iki polinükleotit zincirinden oluşurlar. Virüsler dahil bilinen tüm canlılar gelişir, çalışır, büyür ve çoğalır. DNA, verileri dört kimyasal bazdan

oluşan bir kod biçiminde depolar:Adenin (A),Guanin (G),Sitozin (C),Timin (T) (Davis 2012).

Deoksiriboz şekerli bir fosfat grubu. Bir nükleotidin şekeri ile bir sonrakinin fosfatı arasındaki kovalent bağ (bazen fosfo-diester bağı olarak da ifade edilirr) yoluyla alternatif bir şeker-fosfat omurgası oluşturulur.Baz eşleştirme kuralları, iki farklı polinükleotid dizisinin (A ile T ve C ile G ile) azotlu bazlarını birleştirmek için hidrojen bağını kullanır.İki farklı ve birbirini tamamlayıcı azotlu baz, pirimidinler ve pürinlerdir. DNA'da adenin ve guanin pürin, timin ve sitozin pirimidindir (Şekil 2.1) (Alberts *et al*. 2014) .



Şekil 2.1 DNA'nın yapısı (Roushan *et al.* 2014)

2.3 Kromozom

Kromozomlar, hücre çekirdeğindeki ipliksi elementler olup, her kromozom, kromozomları kısa (minyon için p) ve uzun (q) kollara ayıran sentromer adı verilen bir konstriksiyona sahiptir. İkincisi, kromozomun ucunu kapatmak ve stabilite ve bütünlüğü korumak için önemlidir. Her kromozomun ucu telomer olup, telomer esas olarak tandem DNA tekrarlarından oluşmakta ve telomerin boyutu telomeraz olarak bilinen bir enzim tarafından korunmaktadır (Hammond *et al*. 2017).

Telomerin kısalması, hücre ölümü ve yaşlanma sürecinde olabilir. Her somatik hücre, ebeveynlerden miras alınan iki set kromozom içermekte olup, insanlarda 22 set otozom ve 2 cinsiyet kromozomu, yani toplam 46 kromozom vardır. Kromozomlar hem DNA hem de histon proteinlerini içermekte olup, bu kombinasyona kromatin denir. Çekirdekte, kromozomlar sıkı bir şekilde paketlenir, bu durum da büyük miktarda DNA'nın küçük bir alana yerleştirilmesine izin verir. Paketleme ayrıca daha önce tartışıldığı gibi gen regülasyonunda da rol oynar ve boyandığında, kromozomlar açık ve koyu bantlar gösterir. Işık bantları, aktif olarak eksprese eden genleri içeren ökromatini tanımlamakla berbaer, karanlık bantlar, büyük ölçüde tekrarlayan ifade etmeyen DNA'dan oluşan heterokromatindir NA (Trent 2005).

2.4 İnsan Spermatogenezi

İnsan spermatogenezinin karmaşık biyolojik süreci, birincil spermatositlerle sonuçlanan spermatogonia'nın mitotik bölünmesi ile başlar ve ikincil spermatositlerle sonuçlanan birinci mayotik bölünme ile devam eder. İkinci mayoz döngüsünde, bu ikincil spermatositler, uzun spermatidlere farklılaşan haploid yuvarlak spermatitler üretir, Sırayla olgun spermatozoaya farklılaşır.İnfertilite, dünya çapında yaklaşık 30 milyon erkeği etkilemekte olup Avustralya ve Orta ve Doğu Avrupa en yüksek oranlara (%8-12) sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, seminogram erkek infertilitesini aşağıdaki gruplara ayırmak için kullanılabilir: Sperm teslimat sorunları, tıkayıcı azospermiye (OA) ve anormal sperm üretimine (NOA) neden olur, bu durum da erkeklerin ejakülatlarının yarısından daha azını kaybetmesine veya sahip olmasına neden olabilir. ABD Ulusal Sperm Bankası'na göre NOA, tüm erkek cinsel organı vakalarının %60'ından sorumludur (Colaco *et al*. 2017).

Ayrıca, DSÖ raporlarına göre, ejakülatta oligozoospermi, (15–20)*106'dan az spermatozoaya sahip olmak olarak tanımlanır; astenozoospermi, sperm motilitesinin %50'den az olduğu bir durum olduğu için, normozoospermi ejakülatta normal sperm sayısının varlığı anlamına gelmektedir. Ayrıca teratozoospermi, spermlerin yüzde 30'undan daha azının düzenli morfolojiye ve de aspermiye (spermi dışarı atamama) sahip olduğu bir durum olduğunu göstermektedir.

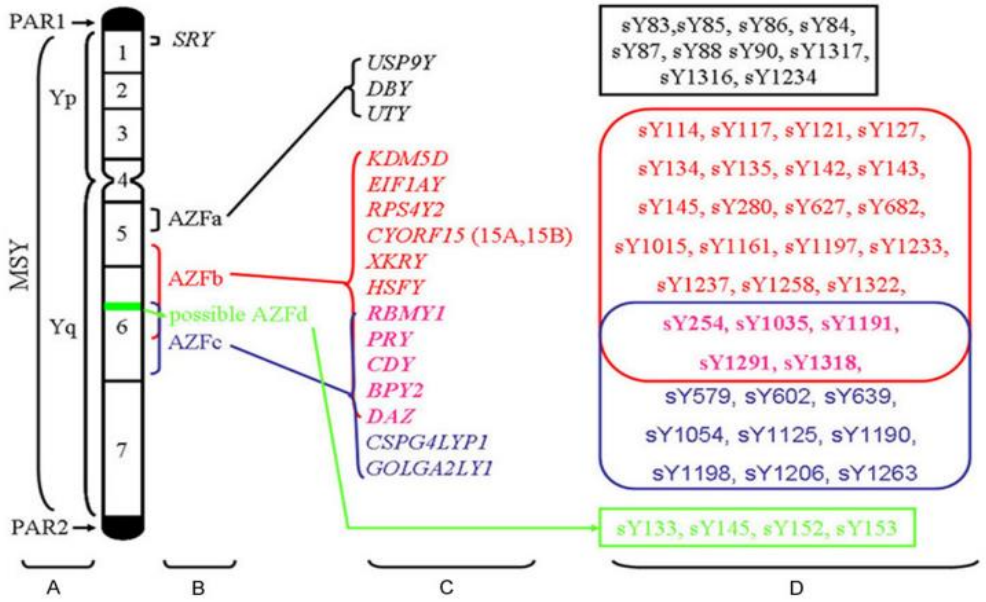
2.5 İnsan Y Kromozom Geni

İnsan genomunda Y kromozomu benzersiz bir rol oynar. Y, birçok türde cinsiyeti belirleyen kromozomdur, çünkü varlığı veya yokluğu, cinsel üreme yoluyla üretilen yavruların erkek veya dişi mi olduğunu belirler. Memelilerde erkek gelişimini kontrol eden SRY geni, Y kromozomunda bulunur. İnsan Y kromozomu yaklaşık 59 milyon baz çift DNA içerir (Bellott *et al.* 2014).

Y kromozomu sadece babadan oğula geçebilir. Y kromozomu, insan genomunun en hızlı gelişen bölümlerinden biridir (Wade2010). Hem kısa (Yp) hem de uzun (Yq) kollar insan Y kromozomunu oluşturur **(**Lahn*et al*. 2001). Yp ve Yq11'in ökromatinden zengin bölgeleri, uzun kolun (Yq12) heterokromatinden zengin uzak kısmı ile kontrast oluşturur. Y kromozomunun erkeğe özgü bölgesi (MSY), aynı zamanda Y'nin yeniden birleşmeyen bölgesi olarak da bilinir, Y kromozomunun yalnızca erkeklerde bulunan bir bölümüdür. Y kromozomunun uzunluğunun yüzde 95'ini oluşturmakla beraber ökromik ve heterokromatik diziler içerir (Şekil 2.2).

Ökromatik MSY dizilerinde 8 Mb Yp ve 14.5 Mb Yq vardır. Bu diziler X-transpoze (3.4 Mb), X-dejenere (8.6 Mb) ve amplikonik (10.2 Mb) olarak sınıflandırılır. Sekiz masif palindrom ile ayırt edilen amplikonik diziler, MSY ökromatik döngülerinin önemli bir bölümünü oluşturur. Sekiz palindromdan altısı, testise özgü proteinleri kodlayan genleri içerir (Navarro-Costa *et al*.2010).

Ayrıca, MSY'nin dokuz çok kopyalı protein kodlayan gen ailesinden sekizinin palindromlar içinde üyeleri vardır ve bu ailelerin altısı yalnızca palindromlar içinde bulunur. Y kromozomu, spermatogenezi kontrol eden birçok gen içerir ve bu kromozomun uzun kolu, azospermi ile ilişkili bilinen kromozomal anormalliklerin çoğunun yeri olarak tanımlanmıştır. İdiyopatik azospermili hastaların genetik analizi, üç AZF alt bölgesini ortaya çıkarmıştır: AZFa , AZFb ve AZFc.Y kromozomuna özgü genlerin çoğu bu AZF'lerde bulunur (Şekil 2.2) (Suganthi *et al.* 2014).



Şekil 2.2 A,B,C, ve D AZF lokuslarının, ilgili genlerin ve STS göstergelerini, insan Y kromozomunun bir diyagramında gösterilmesi (Yu *et al.* 2015)

2.5.1 Y- kromozomu

Y kromozomu üzerinde yer alan azospermi faktöründe (AZF) delesyonların tespiti için Y Kromozomu testi yapılmaktadır(Jiang *et al.* 2015).Bu delesyonlar sperm yokluğundan dolayı erkek infertilitesinin sebebidir. Test ayrıca üç genden gelen dizilerin varlığının doğrulanmasını da sağlar: (AZFa sY84, sY 86), (AZFb sY 127), (sY 134), (AZFc sY 254, sY 255). Bunlar: Çinko Parmak Y Bölgesi (ZFY), Çinko Parmak X Bölgesi (ZFX), DNA'nın varlığını ve numunenin uygun bir amplifikasyonunun meydana geldiğini doğrulamak için dahil edilen, sırasıyla Y kromozomu ve X kromozomu üzerinde bulunan iki yüksek derecede homolog gen, Cinsiyet ters Y (SRY), Y kromozomunun kısa kolunda bulunur ve ana testis determinantıdır(Harley *et al.* 2003).

2.5.2 Y kromozomu mikrodelesyonu'lerin iletim özellikleri

Y delesyonu olan erkeklerin çoğu infertil olsa bile, mutasyonları yavrularına taşınamaz. Bununla birlikte, azospermili erkekleri başarılı bir şekilde verimli hale getirme için ICSI

ve TESE prosedürleri kullanılmıştır. Bu prosedürler, YCM'nin infertil babalardan oğullarına geçme şansını artırmaktadır (Raudsepp and Chowdhary 2015).Keşif, Yp geninin bazı kısımlarında (XY cinsiyet değişimi) yer değiştirmeleri olan, cinsiyet değişimi olan hastalar üzerinde çalışılarak yapılmıştır. Bu delesyonlara sahip hastalar, SRY'nin keşfinde önemli bir rol oynamıştır.Bu gen, embriyogenez sırasında testis gelişiminden sorumlu olmuştur. SORRY (Y kromozomunda Cinsiyet Belirleyen Bölge), Y kromozomunun kısa kolunda testis tayininden sorumlu gen psödootozomal sınıra yakın olarak bulunmuştur(Koopman *et al*. 2016).

İnsanlar, 3-SRY olarak bilinen 204 amino asit proteininde korunmuş bir DNA bağlama alanına sahiptir.Bipotansiyel gonadın Sertoli hücre farklılaşması ve testis oluşumu SRY'ye bağlıdır. SRY ayrıca yağ dokusu, yemek borusu, timus, adrenal bezler, beyin ve böbreklerde bulunur.Cinsiyeti tanımlamaktan başka amaçlara hizmet ettiğini işaret etmektedir(Krausz and Casamonti 2017).

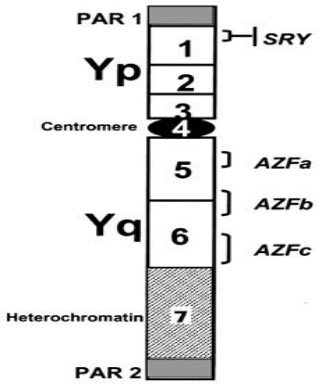
2.5.3 Y- kromozom harita delesyonu

Y kromozomu, insan kromozomları arasında en küçük akrosentrik kromozomdur. Y'nin ortalama uzunluğu nüfusa veya etnik gruba göre değişir; Doğulu erkeklerin, Kafkas erkeklerine göre daha uzun bir Y kromozomu vardır (Ibraimov *et al*. 2000).

Önceleri, bilim insanları Y kromozomunun fonksiyonel genlerden yoksun olduğuna inandıkları için çıplak kromozom olarak bilinmektedir.Son zamanlarda çok sayıda fonksiyonel gen keşfedilmiş ve haritalanmıştır. Bununla birlikte, Y kromozomu genlerinin haritalanması hala engellenmektedir, çünkü çoğu Y kromozomu geni birden fazla kopya halinde bulunur ve bu genlerin bazıları, Y kromozomu genlerinin atalarının kökeni olduğu düşünülen X ve otozomal kromozomlarda bulunanlarla homolojiye sahiptir.Y kromozomu, diğer akrosentrik kromozomlar gibi üç bölüme ayrılır: kısa (To), uzun (Yq) ve sentromer (Vollrath *et al.* 1992).

İki psödootozomal bölge hem Yp hem de Yq'nun uçlarında bulunurken, Y kromozomunun geri kalanı hem heterokromatin hem de öokromatin bölgeleri içerir. Ökromatin segmenti Yp ve Yq kolları tarafından paylaşılır ve her iki hisse de merkeze yakındır. Öokromatin ve heterokromatin segmentleri yedi aralığa bölünmüştür. Kısa kolda (Yp) 1-4 aralık proksimalden distale doğru sıralanırken, Y kromozomunun uzun kolunda (Yq) proksimalden distale doğru (5 ila 6) aralıklar düzenlenir. Bununla birlikte, bu aralıkların her biri, bir Y kromozomu silme haritası olarak alt aralıklara (A, B, C, vb.) bölünür (Vollrath *et al*. 1992).

Tüm Y kromozomu silme bölgeleri 43 dizi etiketli bölgeye (STS) bölündü. STS, PCR ile amplifiye edilebilen bilinen dizilerin polimorfik olmayan tek kopya bölgeleridir ve Y kromozomu mikrodelesyon çalışmalarında bunların izlenmesini kolaylaştırır. Spermatogenez ile ilgili genler, Y kromozomunun uzun kolunda 5 ve 6 bant Yq 11.21 ila Yq 11.23 delesyon aralığında bulunur. AZF bölgesi, silinmesiyle ilişkili en şiddetli fenotipin azospermi olması nedeniyle bu şekilde adlandırılmıştır. AZF bölgesi, silinmeleri spermatojenik başarısızlıkla bağlantılı olan üç örtüşmeyen lokus, AZFa, AZFb ve AZFc içerir. Yq (AZF) mikrodelesyonları azospermik erkeklerin %10 ila 15'inde bulunur (Şekil 2.3) (Henegariu *et al*. 1994).



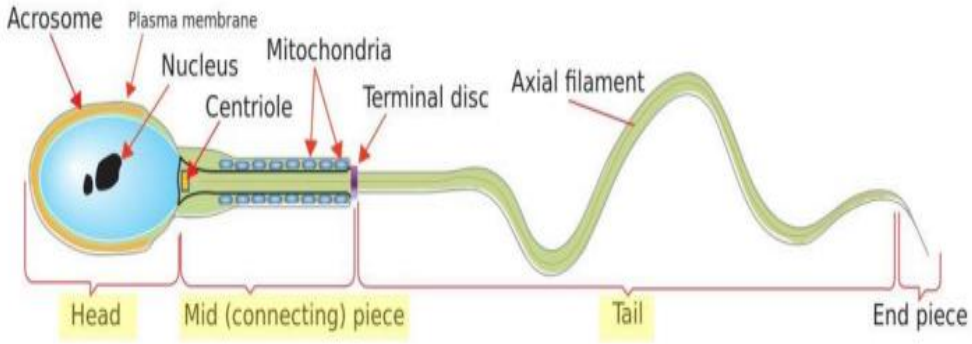
Şekil 2.3 Y kromozomu Mikrodelesyon aralığı (Kun *et al.* 2000)

2.6 Sperm

"Sperm" kelimesi Yunanca "sperma" kelimesinden gelir ve erkek üreme hücresi veya ("tohum" anlamına gelen) gamet anlamına gelmektedir.Gametlerin boyutu büyük ölçüde değişir, daha küçüğü "erkek" veya sperm hücresi olarak bilinir(Kumar 2006).Aspermatia, hareketsiz bir sperm hücresine karşılık gelirken, aspermatozoa, hareketli bir uniflagellat sperm hücresine karşılık gelir.Amniyotlarda (sürüngenler ve memeliler) testislerin seminifer tübüllerinde gerçekleşen spermatogenez sürecinde sperm hücreleri oluşturulur.Mayoz bölünme sırasında, sperm hücreleri yüzlerce farklı hücre tipi üretir ve sonunda olgun, hareketli sperm hücresine yol açar, bu işlem halen devam etmektedir ve tamamlanması yaklaşık üç ay alacaktır(L'Hernault 2006).İnsan sperm hücreleri haploiddir, bu nedenle dişi yumurtanın 23 kromozomuyla birleşerek 46 çift kromozomlu diploid bir hücre oluşturabilirler. Memeliler spermi epididimde depolar ve boşalma sırasında meni olarak serbest bırakır(Boitrelle *et al*. 2013).

2.6.1 Spermin anatomisi

Memeli sperm hücresi ikiyekategoriye ayrılır,İlk kategori baş**.**Dişi yumurtasına nüfuz etmek için enzimler içeren ince, yassı bir kese olan akrozom çekirdeği önden çevreler. Vakuolleri de vardır.İkinci kategorikuyruk**.**En uzun kısım, kamçı olarak da bilinen kuyruktur ve dalgalı hareket kabiliyetine sahiptir. Bu hareket, spermi yüzmeye iter ve yumurta penetrasyonuna yardımcı olur (Şekil 2.4) (Colaco and Modi 2018).



Şekil 2.4 Sperm Tanımı (Du Plessis *et al.* 2011)

2.7 İnsan Seminal Sıvısı

Eşleştirilmiş epididimler, konsantre bir spermatozoa süspansiyonu olan insan spermini depolar. Boşalma sırasında, aksesuar cinsel organlardan gelen sıvı deşarjları onunla birleşir ve onu seyreltir.Semenin ölçülebilen iki ana özelliği şunlardır.Testisler tarafından post-testis kanal sisteminin kapasitesini ve sperm üretimini temsil eden toplam spermatozoa toplamı (O'Donnell *et al*. 2015).Bezlerin salgı aktivitesini gösteren toplam sıvı hacmi. Seminal plazma olarak da bilinen seminal sıvı, sperm fizyolojik metabolizması için gerekli çeşitli organik ve inorganik maddeleri içeren bir sperm bileşenidir.Testis, epididim ve prostat ve seminal veziküller gibi aksesuar bezler seminal kompleks sekresyon karışımını üretmektedir (Sharkey *et al*. 2007).

2.8 Azospermi

Menisi sperm içermeyen bir erkeğin tıbbi bir durumudur.Erkek infertilitesi ile bağlantılı olup, ejakülattan spermin tamamen yokluğu, bir erkeğin ejakülatı tespit edilebilir sperm (meni) içermediğinde buna denir. Normalde sperm, bir erkeğin skrotumunda testisler tarafından üretilir. Sperm, erkek üreme sisteminden geçerek sıvı ile birleşerek meni oluşturur. Boşalma sırasında penisten atılan kalın, beyaz sıvıya (sperm) denir(Lehti and Sironen 2017).

2.8.1 Azospermi faktörü (AZF)

İnsan erkek Y kromozomunun uzun kolundaki AZF alanı bir dizi protein veya gen kodlamaktadır (Martínez*et al*.2011). Bu bölgedeki delesyonlar sperm infertilitesi ile ilişkilendirilmiştir. Üç spermatogenez lokusu, AZFa, AZFb ve AZFc, ilk olarak Yq11'de keşfedilmiştir (birlikte AZF olarak anılır) (Nailwal and Chauhan 2017). AZF mikrodelesyonları, menisi sperm içermeyen bir erkeğin en yaygın tıbbi durumlarından biridir.İnfertilite, çiftlerin %15'ini etkilemekte olup vakaların %50'sinden erkek partner sorumludur. Genetik anormallikler erkek faktörlü olabilir ve infertilite vakaların %15 ila 30'unda bulunur(Zhang *et al*. 2013).Erkek faktörü infertilitesindeki en yaygın genetik

anormalliklerden biri, Y kromozomunun uzun kolundaki mikrodelesyonlardır(Yu *et al*. 2015).

2.9 Y Kromozomu Mikrodelesyon Türleri

AZFa**:** USP9Y ve DDX3Y, AZFa bölgesinde bulunan iki tek kopya gendir (Krausz *et al*.2017). Tam AZFa delesyon işlemleri, iki özdeş dizi bloğu arasındaki homolog rekombinasyondan kaynaklanır. Tam bir AZFa delesyonu olan erkekler, ICSI için testiküler spermatozoa üretemezler**.** AZFa bölgesindeki Yq mikrodelesyonları, tüm Yq mikrodelesyonlarının %0,5 ila 4'ünü oluşturur(De Felici *et al*.2015).

AZFb: Alt bölge, Yq11 bölgesinin kalbinde yer almaktadır. Yapısı karmaşıktır ve AZFc bölgesiyle kısmen örtüşmektedir. Tam AZFb delesyon işlemleri, tüm Yq mikrodelesyonlarının %1 ila 5'ini oluşturur ve AZFa delesyonlarıyla aynı sonuçlara sahiptir(Navarro-Costa *et al*. 2010).

AZFc:Yq'nun sonuna yakın AZFc alt bölgesidir. Bu bölgedeki genler çeşitli işlevlere hizmet etseler de, hepsi tam spermatogenez için gereklidir. AZFc delesyonları, sperm sayısında önemli bir düşüşle ilişkilendirilmiş olup, AZFc mikrodelesyonu olan bazı erkekler, zamanla sperm sayılarının düştüğünü görmektedir. İnsan genomunun AZFc bölgesi, genetik olarak en dinamik olanlardan biridir. Azospermi ve Sertoli sadece hücre sendromu (SCOS), AZFbc delesyonlarından kaynaklanır; TESE genellikle sperm bulma şansı düşük olduğu için önerilmez(Huynh and Trounson 2002).

2.10 Azospermide Delete Edilmiş (DAZ)

AZFc lokusunun DAZ geni ilk keşfedilen olmakla beraber, erkek infertilite hastalarının Y kromozomunda sıklıkla delesyona uğrayan bir gen olduğu bulunmuştur. Daha sonraki araştırmalarda, AZFc bölgesinde sırasıyla DAZ 1 ve 2 ve DAZ 3 ve 4, dört genden oluşan iki grup şeklinde palindromik DAZ kopyalarını keşfedilmiştir (Modi *et al*. 2018). DAZ delesyonu erkeklerde spermatogenik kusurların %10'undan sorumludur.

Fonksiyonel homolog (DAZLA) insan kromozomunda bulunduğu için, DAZ delesyonları ile azospermi arasında doğrudan bir bağlantı kurmak zordur(Fu *et al.* 2015).

2.11 Azosperminin Nedenleri

Her bir azospermi türü, benzersiz bir dizi potansiyel nedene veya birlikte ortaya çıkan koşullara sahiptir. Y kromozomunu etkileyen genetik koşullar, sperm sayısının hiç olmadığı veya düşük olduğu vakaların %10 ila 15'inden sorumlu olabilir. Bu nedenler şunlardır:Pretestiküler azospermi (Nonobstrüktif Azospermi)Bazı genetik bozukluklar bu obstrüktif olmayan tipe neden olabilir. Örneğin Kallmann sendromu, vücudun sperm üretimini etkileyebilecek gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) üretme yeteneğini etkiler. Bu engelleyici olmayan tip aşağıdakilerin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir(Foresta *et al*. 2004):

1. Genetik: Düşük sperm kalitesinin tüm genetik nedenleri bilinmemekle birlikte kolaylıkla teşhis ve tedavi edilebilirler.
2. Y Kromozom Delesyonu: Spesifik delesyonlar (örn., AZFc) sperm bulma olasılığını arttırdığından, bazı erkeklerin kritik bölümleri eksik olduğu için belirli bir Y kromozomu probleminin belirlenmesi kritiktir. Azospermi vakalarının %10 kadarından kromozom delesyonları sorumludur. Moleküler biyoloji teknolojilerinin ilerlemesi ile ilk spermatogenez geni keşfedilmiş ve AZF bölgesi içinde (proksimalden distale) aşağıdaki üç farklı aralık haritalanmıştır: Yqq (AZFa, AZFb, AZFc) (Fan and Silber 2019).
3. Varikosel: Skrotumdaki damarlar büyüyüp genişleyerek varikosel ve sperm üretiminde azalmaya neden olabilir. Erkek Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Programıyla, varikosel bakımı hakkında daha fazla bilgi sağlayanabilir(Inci and Gunay 2013)..
4. Diğer faktörler şunlardır: Geç ergenlik, tümörler, radyasyon, diyabet ve önceki ameliyatlarda kabakulak olması(Ishikawa 2012).

Posttestiküler azospermi (obstrüktif Azospermi**,** bu obstrüktif tip azospermi vakalarının yaklaşık %40'ında bulunur. Spermi hareket ettiren ve depolayan epididim veya vas deferens tüpleri gibi bir yerdeki bağlantının kopması sonucu tıkanıklık oluşabilir. En yaygın tıkanıklık türleri şurada bulunur(Baker and Sabanegh 2013):

1. Konjenital Kaynak: Bazı genetik nedenler veya konjenital anomaliler obstrüktif azospermi ile sonuçlanabilir. Bazı erkekler epididim veya ejakülatör kanal tıkanıklığı ile doğarlar, diğerleri ise üreme sisteminin bir veya iki tarafında vas deferensten yoksun olabilir. Bu anomalilerin kökenleri her zaman net değildir(Hopps *et al*. 2002).
2. Epididim: Her testisin arkasında spermin olgunlaştığı sarmal bir tüp vardır. Epididimdeki bir tıkanıklığa, bulaşıcı hastalıklar (epididimit gibi), iltihaplanma, skrotal travma ve nadir görülen genetik bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli faktörler neden olabilir (Edey ve Sidhu.(2008

2.12 Azosperminin Belirtileri

Azospermi veya spermde sperm eksikliğinin spesifik semptomları yoktur. Azosperminin bazı nedenleri gözle görülür belirti ve semptomlar olarak kendini gösterebilir. Aşağıdaki belirtiler veya semptomlar, azospermi için risk altında olduğunuzu gösterebilir (Mozdarani *et al*. 2017):

2.13 Azospermi Tanısı

Ayırıcı tanının birincil hedefleri şunları belirlemektir: Tek seçeneğin donör sperm veya evlat edinme olduğu azospermi türleri.Kalıtsal bir azospermi, özellikle yardımcı üreme teknolojileri kullanılıyorsa, hasta veya çocukları için sağlık yansımaları olabilecek nedenler, Düzeltilebilir azospermi formları (cerrahi veya ilaç tedavisi) (Andrade *et al.* 2001).

2.13.1 Tıbbi arka plan

Azosperminin tipininin belirlenmesinde ayrıntılı bir tıbbi öykü önemlidir. Bazı kritik bileşenleri içermelidir: İnfertilite öyküsü, cinsel ilişki öyküsü, kişisel tıbbi arka plan, önceki operasyonlar/tedaviler ve ataların öyküsü (Devita 2018).

2.13.2 Spermin incelenmesi

Azospermi terimi basitçe sperm analizinin sonucunu ifade eder. Normal hacimli bir azospermik ejakülat (yani > 1.5 mL) değerlendirilmelidir. Sperm analizi olarak da bilinen sperm sayımı testi, bir erkeğin sperminin sağlığını ve canlılığını belirler. Meni, boşalma sırasında salınan ve içinde sperm (diğer şeker ve protein maddeleriyle birlikte) bulunan sıvıdır. Bir sperm analizi, sperm sağlığının üç ana yönünü değerlendirmektedir. Bunlar; Sperm miktarı Spermin şekli Sperm motilitesi, sperm hareketini ifade eder(Patel *et al*. 2019).

2.13.3 Genetik analiz

Azospermi, azospermik hastalarda genetik bir temele sahip olabilir. Azosperminin en yaygın genetik nedeni Y kromozomunun uzun kolundaki mikrodelesyonlardır. Bu bölge spermatogenezi düzenleyen 26 gen içemekte olup, "AZF" (azoospermi faktörü) aralığında yer alır; bu aralıktaki mikrodelesyonlar tipik olarak azospermiye bağlıdır. AZFa, AZFb ve AZFc, her biri spermatogenez kontrolü için kritik genler içeren AZF aralığının üç alt bölgesidir. Hemen hemen tüm klinik olarak anlamlı delesyonlar, Y kromozomu mikrodelesyon testi kullanılarak tespit edilebilir. Sonuç olarak sadece erkek infertilitesinin nedenini belirlemeye yardımcı olmakla kalmaz, olası tedaviler ve sonuçlar hakkında da bilgi verir(Esteves *et al.* 2018).

2.14 Erkek İnfertilitesinin Tedavisinde Çeşitli Yöntemler

İnfertilite, aşağıdakiler gibi çeşitli yöntemlerle tedavi edilebilir.Hormon tedavisi ve cerrahi prosedürlerin her ikisi de seçeneklerdir.Yardımcı üreme teknolojisi (ART), in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrauterin tohumlama (IUI) gibi prosedürleri içermektedir (Isidori *et al*. 2005).

2.14.1 İnterlökinlerin genel özellikleri

İnterlökin üretimi kendi kendini sınırlayan bir süreçtir. Çoğu interlökinlerin haberci RNA'sı kararsızdır ve geçici sentez ile sonuçlanır. Sentezlendikten sonra, bu moleküller hızla salgılanır.İnterlökinlerin işlevleri gereksizdir. Interleukin-4, Interleukin-5 ve Interleukin-13 gibi B hücresi büyüme faktörleri, B hücresi farklılaşmasını destekler.İnterlökinler sıklıkla diğer interlökinlerin sentezini ve hareketlerini etkiler. Örneğin, IL-1, IL-2'nin salınmasıyla sonuçlanan lenfosit aktivasyonunu uyarır(Ferreira *et al*. 2018).Interlökin 6Küçük bir glikoprotein (21kDa), kronik inflamasyon sırasında monositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, lenfositler, keratinositler, astrositler ve birkaç malign hücre tarafından üretilen bir pleiotropik sitokindir ve IL-6 ayrıca alevlenme ve B hücre olgunlaşmasında rol oynayan doğal olarak oluşan bir kimyasaldır. 7p21 kromozomu üzerinde konumlanan insan IL-6 geni kabaca 5 Kb uzunluğundadır ve dört intron ve beş ekzondan oluşur. IL-6, aynı zamanda bir anti-inflamatuar olarak işlev gören bir pro-inflamatuar sitokindir. İnsanlarda IL6 geni tarafından kodlanır. IL6, enfeksiyonlara ve doku yaralanmalarına bir yanıttır, akut faz yanıtlarını, hematopoezi ve immün yanıtları aktive ederek konak savunmasına katkıda bulunur. IL-6'nın işlevi şunlardır (Dinarello 2018):

Diğer interlökinlere tepki olarak monositler ve makrofajlar IL-6 oluşturur.Vücut, yanıklar, kanser ve travmanın yanı sıra ani veya devam eden bir şiddetlenme olduğunda IL-6 yapar.Otoimmün hastalıklarda ateşe neden olan bir pirojendir.Akut fazda protein sentezini teşvik etmekle görevlidir.Kemik iliğinde nötrofil üretimini sağlar. IL-6, beyaz kan hücreleri, kırmızı kan hücreleri ve trombositler dahil olmak üzere kan hücrelerinin

gelişimi için de gereklidir.IL-6 ayrıca osteoklast aktivasyonuna ve osteoporoza neden olur (Fu *et al.* 2016).

2.14.2 İnterlökin -6 ve erkek infertilitesi

Sitokinler ve insan üremesi arasındaki ilişki, gonadal ve üreme fizyolojisinde önemli bir rol oynayan çok sayıda çalışmanın odak noktası olmuştur. Birçok çalışma, seminal sitokinlerin, özellikle interlökinlerin konsantrasyonlarının dalgalandığını (IL1, IL2, IL6) bulmuştur. Erkek infertilitesi sıklıkla ürogenital enfeksiyondan kaynaklansa da, birçoğu önlenebilir olan çeşitli diğer faktörlerden de kaynaklanabilir: Bunlar genetik, konjenital kusurlar, endokrin veya immünolojik faktörler, bulaşıcı veya enflamatuar faktörler veya yaşamstili davranışı veya çevresel faktörler sayılabilir (Tanaka *et al.* 2014).

İnsan üremesi, gonadal işlevi ve üreme fizyolojisine dahil olmaları nedeniyle düşük sperm sayısı, düşük sperm kalitesi veya her ikisi ile sonuçlanır. Sitokinlerin, erkek genital sisteminde çok çeşitli hücreler tarafından üretildiği ve en azından kısmen lokal olarak hareket ettiği görülmektedir. Sitokinlerin sperm hareketliliğini, canlılığını ve yumurtaya nüfuz etme yeteneğini etkilediği gösterilmiştir(Tanaka *et al.* 2014).

2.14.3 İnterlökin -1 beta ve erkek infertilitesi

Enfeksiyon ve yaralanmaya karşı konak savunma yanıtları için gerekli olan ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından üretilen güçlü bir proinflamatuar sitokindir.Bu gen, interlökin 1 sitokin ailesine ait bir proteini kodlar. Aktive makrofajlar, B hücreleri ve fibroblastlar, interlökin-1 (IL-1) oluşturabilen hücre tiplerinden sadece birkaçıdır.Diğer biyolojik süreçlerin yanı sıra B-lenfosit olgunlaşmasını ve üremesini, fibroblast büyüme faktörü aktivitesini, hepatosit akut faz protein üretimini, çeşitlenmesini ve mortaliteyi etkiler.Proteolitik olarak işlenmiş IL-1'in moleküler ağırlığı 17.5 kDa'dır.Beyaz kan hücreleri, özellikle makrofajlar, yabancı antijenlere ve

patojenlere (enfeksiyon tehdidi) ve ayrıca kronik inflamasyonda (immünolojik aktivasyon ve otoimmünite) yanıt olarak inflamatuar sitokinler üretir(Wu *et al*. 2021).

Akut ve kronik enfeksiyonlar erkek infertilitesine sebep olabilir.İnsan interlökin-1 iki çeşittir. (hIL-1 ve hIL-1). Her iki hIL-1 tipi de T- ve B-lenfosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını destekler. Yakın zamanda, farklı hücre tiplerinde iki farklı yüksek afiniteli IL-1 reseptör molekülünün bulunduğu keşfedilmiştir.İnterlökin-1-beta, oksidatif stresi etkileyerek sperm fonksiyonunu etkileyebilir. IL-1, bir agonist görevi gören doğal bir anti-inflamatuar faktördür.IL-1'in TNF ile değiştirilmesi, sperm motilitesinin ve astenozoospermi fenotipinin azalmasına neden olur. Bu değişiklik, sperm zarının lipid peroksidasyonundan ve önemli reaktif oksijen türlerinin oluşumundan kaynaklanır(Wu*et al*.2021). Kromozom 2 üzerindeki bir sitokin gen kümesi, bu geni ve sekiz interlökin 1 ailesi genini içermektedir (Roozbeh*et al*. 2016).

3. MATERYAL VE METOT

Çalışma, Irak'ta Bağdat, Anbar ve Babil olmak üzere üç vilayette yapılmıştır. Bağdat Valiliği'ndeki Yarmouk Hastanesi, Babel Valiliği'ndeki Babel Hastanesi, AL-Anbar Valiliği'ndeki AL-Safwa Hastanesi ve özel laboratuvarlardaki infertilite laboratuvarlarından yaşları 21-> 40arasında değişen 100 erkekten örnek toplanarak yapılmıştır. Bu çalışmadaki hastalar en az bir yıldır evlidir. Azospermi şikayeti olmayan 50 erkek (infertilite sorunu veya genital sistem hastalığı öyküsü olmayan) infertilite laboratuvarlarında semen muayenesi ile tespit edilmiş, diğer 50 hasta azospermi hastası olup çalışma grubu için seminal sıvı, infertilite durumlarını belirlemek ve sperm kalite ve miktarını değerlendirmek için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kılavuzlarına göre 3-5 günlük cinsel perhizden sonra değerlendirilmiştir. Seminal sıvı makroskopik (görünüm, hacim, PH, viskozite, jelatinli) ve mikroskobik (sperm sayısı, hareketlilik, morfoloji) koşullar altında incelenmiştir. Ayrıca interlökin IL-6 ve IL-1 gibi immünolojik belirteçler kullanılmış olup, Azospermi ile bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır.

3.1 Çalışma Süresi

Veriler Aralık 2021 - Haziran 2022 tarihleri arasında toplanmıştır.Hasta seçiminde sadece azospermi faktörü olanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Ancak, hipogonadizm, varikosel, pelvik/spinal yaralanmalar, genital enfeksiyon, anatomik anormallikler ve karyotip anormallikleri gibi genetik olmayan nedenlerle Azospermisi olan hastalar dahil edilmemiştir(EK 1).

3.2 Yöntem

Bu çalışmaya katılan tüm erkeklerden ven ponksiyonu ile 5 mL'lik bir kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri, DNA ekstraksiyonu için antikoagülan olarak etilendiamin tetraasetat (EDTA Tüpleri) içeren bir tüp ve interlökin araştırması için toplanan serum için Jel Tüp kullanılarak steril test tüplerine yerleştirildi. Plazma ve serum, her kan örneğinden 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek ayrıldı. Serum ve Plazma bir test

tüpüne aktarıldı ve test zamanına kadar derin dondurucuda (-20℃) saklandı. Laboratuvar tanısında Y kromozomunda yer alan azospermi Faktöründe (AZF) delesyonların saptanması ve Interlökin IL-6 ve IL-1 arasındaki ilişkilerin Y kromozomu geni ile Hibridizasyon PCR Tekniği ve Elisa Tekniği kullanılarak saptanması yer almıştır.

3.2.1 Gen testi

Y-kromozom Kitinin prosedürü üç adımdan oluşmaktadır.

3.2.1.1 DNA ekstraksiyonu

Bu çalışmada Promega firması tarafından sağlanan kitlerdeki adımlara göre Y kromozomu için DNA ekstraksiyonu yapılmıştır (Promega 2012).

1. Kan örneği en az 10 dakika oda sıcaklığında bir döner çalkalayıcıda iyice karıştırılmıştır. Kan donduğunda, karıştırmadan önce tamamen çözülmüştür.
2. 20µL Proteinaz K (PK) Çözeltisi, 1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj tüpüne dağıtılmıştır.
3. Proteinaz K (PK) Çözeltisini içeren tüpe 200 µL kan eklenmiş ve kısa bir süre karıştırılmıştır.
4. Tüpe 200µL Hücre Parçalama Tamponu (CLD) eklenmiştir. Kapatıp en az 10 saniye vorteksleyerek karıştırılmış, ardından 56°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
5. Kan örneği inkübasyonu sırasında boş bir Toplama Tüpüne bir ReliaPrep™ Bağlama Kolonu yerleştirilmiştir.
6. Tüp ısıtma bloğundan çıkarılmıştır. 250µL Bağlama Tamponu (BBA) eklendikten sonra tüpün kapağını kapatıp bir vorteks karıştırıcı ile 10 saniye vorteksleyerek karıştırılmıştır.
7. Tüpün içeriği ReliaPrep™ Bağlama Kolonuna eklenmiş, kapanmış ve bir mikrosantrifüje yerleştirilmiştir.

8. Maksimum hızda 1 dakika santrifüjlenmiştir. Lizatın zardan tamamen geçtiğinden emin olmak için bağlama kolonu kontrol edilmiştir. Lizat hala zarın üstünde göründüğü için, kolon bir dakika daha santrifüjlenmiştir.
9. Akış içeren toplama tüpü çıkarılmıştır ve tehlikeli atık olarak sıvı atılmıştır.
10. Bağlayıcı kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Kolona 500µL Kolon Yıkama Çözeltisi (CWD) eklenmiş ve maksimum hızda 3 dakika santrifüjlenmiştir. Akış atılmıştır.
11. Toplam üç yıkama için Adım 11 iki kez tekrarlanmıştır.
12. Kolon, temiz bir 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir.
13. Kolona 50–200 µL Nükleazsız Su eklenmiştir. Maksimum hızda 1 dakika santrifüjlenmiştir.
14. ReliaPrep™ Bağlama Kolonu atılmış ve eluatı kaydedilmiştir. Bağlama kolonları veya toplama tüpleri tekrar kullanılmamıştır.

3.2.1.2 PCR ile amplifikasyon

PCR tüpüne , 39 µL PCR Premix artı 5µL primer, Taq ve 5µL DNA (50 ng) eklenir. Tüpler döngüleyiciye yerleştirilir (amplifikasyon için Gerçek zamanlı PCR), aşağıdaki protokolü kullanarak DNA amplifiye edilir ve ardından gerektiği gibi her PCR reaksiyonuna 1 damla Nujol yağı eklenir:96 ºC/5dk , 25 döngü: 96 ºC /30 sn , 57 ºC /60sn , 72/60 sn , 72 ºC /5dk,4 ºC.

3.2.1.3 Hibridizasyon yöntemiyle şerit geliştirme

YchromStrip, Y kromozomu üzerinde yer alan Azospermi Faktöründe (AZF) delesyonların saptanmasına yönelik bir testtir. YChromStrip testi kitlerde belirtilen prosedür adımlarına göre gerçekleştirilmiştir

1. Şeritleri içeren alüminyum poşet, fermuarlı mührün üzerinden dikkatlice açılmıştır. Gerekli şeritler, cımbız yardımıyla bir ucundan tutarak çıkarılmıştır.

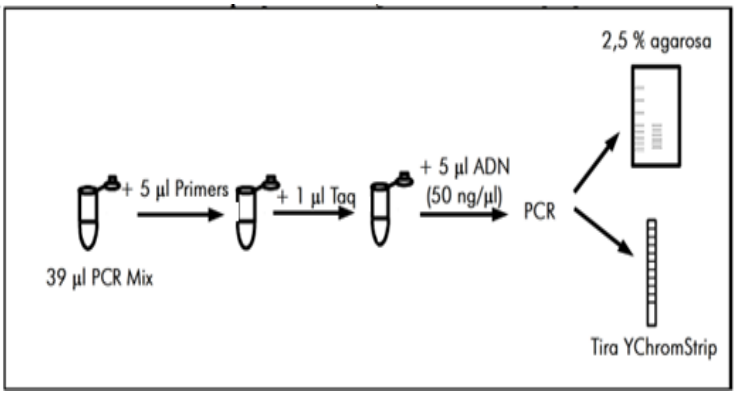
Fermuarlı kilit kullanılarak kese tekrar kapatılmıştır. İstenirse, şeritler altta bir kalemle (kırmızı çizginin altında) işaretlenebilir.

2. Hibridizasyon tepsisi torbasından çıkarılmış ve şerit tepsinin üst ucuna yakın olacak şekilde her kanala bir şerit yerleştirilmiştir. Şerit, işaretli alan yukarı konumda olacak şekilde yerleştirilmiştir (renkli çizgiler görünür olmalıdır).
3. Tepsinin her bir kanalının altına gerekli miktarda denatüran eklenmiştir.
4. Denatüre edici çözeltinin üstüne, gerekli miktarda PCR eklenmiş (bkz. Ürünün kullanım talimatları, "Prosedür: şeritlerin geliştirilmesi" maddesi), her kanalda bir örnek olacak şekilde, nazik bir şekilde pipetle karıştırılmıştır. Karışım hiçbir zaman zara temas etmemiştirr.
5. Plaka termo çalkalayıcıya yerleştirilmiş, böylece tepsi tabanının uçları termo çalkalayıcı plaka üzerinde işaretlenen dikdörtgenin çevresine girmiştir. Termo çalkalayıcının kapağı kapatılmış ve PCR'nin denatürasyonunun gerçekleşmesi için 10 dakika inkübe edilmiştir.
6. 10 dakika sonra termo çalkalayıcının kapağı açılmış ve şeridin üst kısmındaki kanalların her birine 2 mL önceden ısıtılmış hibridizasyon tamponu eklenmiştir. Tamponun soğumasını önlemek için ekleme hızlı bir şekilde yapılmıştır. Plaka yavaşça yukarı ve aşağı hareket ettirerek karıştırılmıştır.
7. Termo çalkalayıcının kapağı kapatılmış ve çalkalamayı başlatmak için RPM düğmesine (çizimde 4 numara) basılmıştır. Tüm hibridizasyon/geliştirme süreci boyunca bu çalkalama hızı ve 42ºC'lik bir sıcaklık korunmuştur, ardından 30 dakika İnkübe edilmiştir.
8. Termo çalkalayıcı açılmış ve bir pipet/mikropipet yardımıyla (tüm kanallar için aynı uç veya pipet kullanılabilir) veya vakum pompası aspirasyonu ile hibridizasyon tamponu çıkarılmıştır. Şeride dokunmaktan kaçınılmıştır. Tamponu çıkarmak için plaka cihazdan çıkarılmış, termo çalkalayıcı içinde sıcaklık kaybını önlemek için bunu yaparken kapağı kapalı tutulmuştur. Hibridizasyon tamponu kaldırılır kaldırılmaz plaka termo-çalkalayıcının içine geri koyulmuştur.
9. Hibridizasyon tepsisinin her kanalına 2 mL önceden ısıtılmış yıkama tamponu 1 eklenmiştir. Küvözün kapağı kapatılmış ve 450 rpm çalkalama hızında 10 dakika yıkanmıştır.

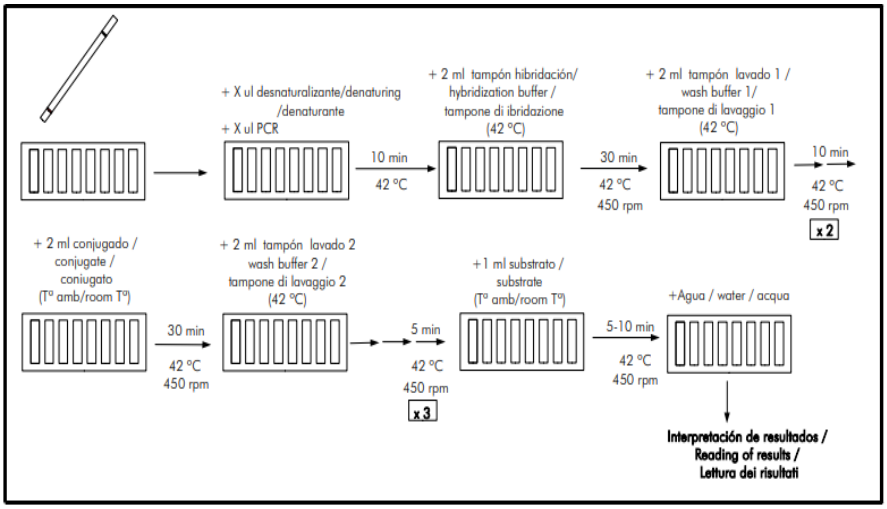
10. Önceki yıkama tamponu çıkarılmış ve işlem tekrarlanmıştır.
11. Yıkama tamponu çıkarılmış ve hibridizasyon tepsisindeki her kanala 2 mL konjugat (oda sıcaklığında) eklenmiştir. Termo çalkalayıcıda 30 dakika 42ºC'de ve 450 rpm'de inkübe edilmiştir.
12. Konjugat çıkarılmış ve 2 mL önceden ısıtılmış yıkama tamponu 2 eklenmiştir. Termo çalkalayıcıda 5 dakika 42ºC ve 450 rpm'de inkübe edilmiştir.
13. Yıkama tamponu 2 çıkarılmış ve işlem iki kez daha tekrarlanmıştır.
14. Yıkama tamponu 2 çıkarılmış ve 1 mL substrat eklenmiştir. Termo çalkalayıcıda 42 ºC ve 450 rpm'de 5-10 dakika inkübe edilmiştir.
15. Plaka termo çalkalayıcıdan çıkarılmış ve birkaç kez 2 mL distile su ile yıkanmıştır. Şeritler tepsiden çıkarılmış, düz bir yüzeye konmuş ve ışıktan korunarak kurumaya bırakılmıştır.
16. Şerit, bir kağıda yapıştırılmıştır (şeritleri mükemmel durumda tutmak için şeffaf selofanla örtün). Daha sonra, kontrol şeridi ile değerlendirme tablosunun yardımıyla sonuçlar yorumlanmıştır. Bunu yapmak için, şeridin siyah ve kırmızı çizgileri tablodaki çizgilerle hizalanmış ve bantları şerit üzerindeki konumlarına göre tanımlanmıştır.

3.2.2 Sağlanan reaktifler ve malzemeler

Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1, 3.2'teçalışmada sağlanan tüm reaktiflerin ve malzemelerin listesi verilmiştir.



Şekil 3.1 PCR hazırlık şeması (Operondx 2016)



Şekil 3.2 Şerit geliştirme şeması (Operondx 2016)

Çizelge 3.1 Çalışmadakullanılan reaktifler ve malzemeler

Y Kromozom Şeridi				**16 Test kiti**
	Zarlar	Şeritler		16 Test
	8- Kanal Plakası	PL		2
PCR Reaktifleri	PCR Karışımı	REAG	PCR Mix	0.8 mL
REAG / PCR	Primerler	REAG	Primers	0.11 mL
	Taq	REAG	Taq	0.030 mL
	Denatüran	Soln	DN	1 mL
	Hibridizasyon Tamponu	BUF	HYB	60 mL
	Yıkama Tamponu 1	BUF	Wash 1	100 mL
	Konjugata	Conj	HRP	60 mL
	Yıkama Tamponu 2	BUF	Wash 2	130 mL
	Substrat	SUBS	TMB	30 mL
	Kullanım talimatları			1
	Yorumlama Tablosu			1

3.3 Serolojik Testler

3.3.1 ELISA tekniği ile interlökin -6 (IL-6) tespiti

Shanghai YL Biont Şirketi ve China Biological Technology Ltd. Şti tarafından üretilen bir kit kullanıyoruz.

Test prensibi, Bu kiti, İnsan İnterlökin 6'yı (IL-6) değerlendirmek için biyotin çift antikor sandviç tekniğine ayarlanmış bir enzime bağlı immünosorbent tahlili (ELISA) kullanır. İnterlökin 6 (IL-6) önceden Interlökin 6 (IL-6) için monoklonal antikorla kaplanmış kuyularda inkübe edilir.

Daha sonra, anti-IL-6 antikorlarını, immünolojik bir kompleks oluşturmak için biyotin etiketli streptavidin-HRP ile karıştırmaktır.

Bir sonraki adım, inkübasyon ve yıkamanın ardından herhangi bir bağlanmamış enzimi ortadan kaldırmaktır. Bir karıştırma kabında, A ve B substratları birleştirilir. Asit eklendiğinde çözelti önce maviye, sonra sarıya dönecektir. İnsan interlökin 6 (IL-6) düzeyleri ve çözelti rengi olumlu bir korelasyona sahiptir.

Reaktifler ve malzemeler, İnsan serumu, plazma, idrar, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarda IL-6'nın in vitro kantitatif tayini için kitte bir sandviç enzim immün testi kullanılır. Interleukin-6 için kullanılan kimyasalla reaktifleri ve malzemeleri göstermektedir (Çizelge 3.2).

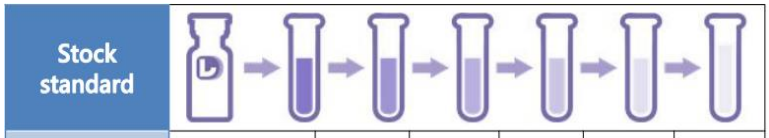
Çizelge 3.2 Reaktifler ve malzemeler

Reaktif	**Miktar**	**Reaktif**	**Miktar**
Kaplamalı ELISA Plakası	12-kuyucuk *8Tüp	Yıkama Konsantresi (30X)	20mL
Standart Seyreltme	3 mL	Giriş	1
Kromojen Çözeltisi A	6 mL	Mühür Plaka Membran	2
Kromojen Çözeltisi B	6mL	Hermetik Çanta	1
Streptavidin -HRP	6 mL	Durdurma Çözeltisi	6 mL
Standart çözelti (640ng/L)	0.5 mL	Biotin ile etiketlenmiş anti-IL-6 antikorları	1 mL

Test prosedürü, Standart çözeltilerin seyreltilmesi: Bu kit, aşağıda gösterilen talimatı izleyerek kullanıcı tarafından küçük tüplerde bağımsız olarak seyreltilebilen standart bir orijinal konsantrasyona sahiptir.

Gerekli şerit miktarı, test edilecek numune miktarının standart miktarına bölünmesiyle belirlenir. Mümkün olduğu kadar, her bir standart çözelti ile her kör kuyu arasına üç veya daha fazla kuyu yerleştirilmelidir (Şekil 3.3).

320 ng/L	Standart No.5	120 µl Orjinal Standart + 120 µl Standart seyreltme
160 ng/L	Standart No.4	120 µl Orijinal Standart No.5 + 120 µl Standart seyreltme
80 ng/L	Standart No.3	120 µl Orijinal Standart No.4 + 120 µl Standart seyreltme
40 ng/L	Standart No.2	120 µl Orijinal Standart No.3 + 120 µl Standart seyreltme
20 ng/L	Standart No.1	120 µl Orijinal Standart No.2 + 120 µl Standart seyreltme



Tube	standard	S5	S4	S3	S2	S1
ng/L	640	320	160	80	40	20

Şekil 3.3 Standart çözelti dilüsyonu

1. İhtiyaç duyulan şerit sayısı test edilecek örnek sayısına göre belirlenmiş ve standartlara göre eklenmiştir. Her bir standart çözeltinin ve her boş kuyucuğun mümkün olduğu kadar üç veya daha fazla kuyu ile düzenlenmesi önerilir.
2. Örneğin enjeksiyonu:Boş kuyucuk: Sadece Kromojen A ve B çözeltileri eklenmiş ve çözelti durdurulmuştur.
3. Standart çözelti kuyucuğu: 50µl standart ve streptavidin-HRP 50µl eklenmiştir.
4. Test edilecek örnek kuyucuğu: 40µl örnek ve daha sonra 10µl IL-6 antikorları, 50µl streptavidin-HRP eklenmiştir. Daha sonra sızdırmaz bir plaka zarı ile örtülmüştür. Karıştırmak için hafifçe sallanmıştır. 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Yıkama çözeltisinin hazırlanması: Yıkama konsantrasyonu (30X) daha sonra kullanmak üzere damıtılmış suyla seyreltilmiştir.
5. Yıkama: Sızdırmazlık plakası zarı dikkatlice çıkarılmış, sıvı boşaltılmış ve kalan sıvı çalkalanmıştır. Her kuyu yıkama çözeltisi ile doldurulmuştur. 30 saniye

bekledikten sonra sıvı boşaltılmıştır. Ardından bu işlem beş kez tekrarlanmış ve plaka lekelenmiştir.

6. Renk geliştirme: Her kuyucuğa önce 50µl kromojen çözelti A eklenmiş ve daha sonra her bir kuyucuğa da 50µL kromojen çözelti B eklenmiştir. Karıştırmak için hafifçe sallanmıştır. Renk gelişimi için ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
7. Durdurma: Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50µl Durdurma çözeltisi eklenmiştir (o anda mavi renk hemen sarıya dönüşmüştür).
8. Analiz: Boş bir kuyucuk sıfır olarak alınmış ve her kuyucuğun absorbansı (OD) tek tek 450nm dalga boyunda ölçülmüştür; bu, durdurma çözeltisi eklendikten sonra 10 dakika içinde gerçekleştirilmiştir.
9. Standartların konsantrasyonlarına ve karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğrinin lineer regresyon denklemi hesaplanmıştır. Daha sonra örneklerin OD değerine göre ilgili örneğin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Hesaplamak için özel bir yazılım da kullanılabilir.

3.3.2 ELISA tekniği kullanılarak interlökin -6 (IL-1beta) tespiti

Shanghai YL Biont Şirketi ve China Biological Technology Şir. Ltd tarafından üretilen bir kit kullanılmıştır (Kucukler(*et al.*2022

Test prensibi: Bu kiti, İnsan İnterlökin 1'i (IL-1) değerlendirmek için biyotin çift antikor sandviç tekniğine ayarlanmış bir enzime bağlı immünosorbent tahlili (ELISA) kullanır. İnterlökin 1 (IL-1) önceden Interlökin 1 (IL-1) için monoklonal antikorla kaplanmış kuyularda inkübe edilir. Sonra, anti-IL-1 antikorlarını, immünolojik bir kompleks oluşturmak için biyotin etiketli streptavidin-HRP ile karıştırılır. Bir sonraki adım, inkübasyon ve yıkamanın ardından herhangi bir bağlanmamış enzimi ortadan kaldırmaktır. Bir karıştırma kabında, A ve B substratları birleştirilir. Asit eklendiğinde çözelti önce maviye, sonra sarıya dönecektir. İnsan interlökin 1 (IL-1) seviyeleri ve çözelti rengi olumlu bir korelasyona sahiptir.

Kullanım amacı,insan serumu, plazma, idrar, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarda IL-1'in in vitro kantitatif tayini için kitte bir sandviç enzim immunoassay kullanılır. Çizelge 3.3, IL-1beta için kullanılan kimyasalla reaktifleri ve malzemeleri göstermektedir.

Çizelge 3.3 Sağlanan reaktifler ve malzemeler

Kaplamalı ELISA Plakası	12-kuyucuk*8Tüp	Yıkama Konsantresi (30X)	20 mL
Standart Seyreltme	3 mL	Giriş	1
Kromojen Çözeltisi A	6 mL	Mühür Plaka Membran	2
Kromojen Çözeltisi B	6mL	Hermetik Çanta	1
Streptavidin -HRP	6 mL	Durdurma Çözeltisi	6 mL
Standart Çözelti (8000pg/L)	0.5 mL	Biotin ile etiketlenmiş anti-IL-6 antikorları	1 mL

3.3.2.2 Test prosedürü

IL-1beta'nın tahlil prosedürünün adımları, Interleukin 6(IL-6)'nın adımları ile aynıdır. İnterlökin 1'i kitlerde belirtilen prosedüre göre gerçekleştirdik.Referansların konsantrasyonlarını ve ilgili OD değerlerini kullanarak, standart eğri için doğrusal regresyon modeli elde edilmiştir. Sonra, örneklerin OD değerlerine göre ilgili örneğin konsantrasyonu bulunmuştur. Ayrıca, özel yazılımlar kullanılarak hesaplamalar yapılabilmektedir.

3.4 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel Analiz Sistemi- SAS (2012) aracı, farklı faktörlerin araştırma değişkenleri üzerindeki etkisini göstermek için kullanılmıştır. Bu çalışmada, yüzdeleri karşılaştırmak için ki-kare testi kullanılmış ve ortalamaları anlamlı ölçüde karşılaştırmak için en az önemli fark (LSD) veya T-Testi, %0,05 olasılık ve %0,01 ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmaya, vaka grubu olarak Azoospermi faktöründen mustarip 50 erkek ve kontrol grubu olarak Azospermisi olmayan 50 erkek olmak üzere 100 erkek dahil edilmiştir. Çizelge 4.1'de gösterildiği üzere, her iki gruptaki erkekler yaşa göre üç yaş grubuna şu şekilde dağılmıştır: Kontrol grubunda, 20-30 yaş grubu %60,00, 31-40 yaş grubu %28,00 ve 40 yaş ve üzeri yaş grubu %12,00 iken; vaka grubunda 20-30 yaş grubu %58,00, 31-40 yaş grubu %32,00 ve 40 yaş ve üzeri yaş grubu %10,00 olmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Örneklemeyapılan deneklerin yaş grubuna göre dağılımı

Yaş grubu (yaş)	**Kontrol Sayısı**	**Kontrol Yüzdesi (%)**	**Hasta Sayısı**	**Hasta Yüzdesi (%)**
20-30 yaş	30	60.00	29	58.00
31- 40 yaş	14	28.00	16	32.00
40 yaş ve üzeri	6	12.00	5	10.00

4.1 ÖrneklemeÇalışmasının Yerleşim Yerine Göre Dağılımı

Bu çalışma, Çizelge 4.2'de gösterildiği üzere, hasta ve kontrol gruplarının çevreye (yerleşim yerine) göre hasta gruplarında şehirde yaşayanların oranının %76.00 ve kırsal bölgelerde yaşayanların oranını %24.00 olduğunu ve kontrol grubunda şehirde yaşayanların oranının %72.00 ve kırsal bölgelerde yaşayanların oranını %28.00 olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Örnekleme çalışmasının yerleşim yerine göre dağılımı

Yerleşim Yeri	**Hasta Sayısı**	**Hasta Yüzdesi (%)**	**Kontrol Sayısı**	**Kontrol Yüzdesi (%)**
Şehir	38	76.00	36	72.00
Kırsal	12	24.00	14	28.00

4.2 ÖrneklemeÇalışmasında Hasta Grubunun Vilayetlere Göre Dağılımı

Çizelge 4.3'te gösterildiği üzere, hasta grubunun vilayetlere göre dağılımı, Bağdat %66.00, El-Anbar %20.00 ve Babil %14.00 şeklinde olmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Örnekleme çalışmasında hasta grubunun vilayetlere göre dağılımı

Vilyaet	Hasta sayısı	Hasta yüzdesi (%)
Bağdat	33	66.00
Anbar	10	20.00
Babil	7	14.00

4.3 ÖrneklemeÇalışmasının Hasta Grubunun Kronik Hastalık Öyküsüne Göre Dağılımı

Çizelge 4.4'te gösterildiği üzere, mevcut çalışmaya göre, bazı hastaların, Diabetes mellitus %31.25 ve Hidrosel hastalıkları %68.75 gibi kronik hastalıklardan muzdarip olduğu ortaya çıkmıştır. Sonuç istatistiksel olarak oldukça anlamlıydı (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Örnekleme çalışmasının hasta grubunun kronik hastalık öyküsüne göre dağılımı

Kronik Hastalıkların Öyküsü	Toplam Sayı	Yüzde (%)
Diabetes Mellitus (D.M)	5	31.25
Hidrosel	11	68.75

4.4 Örnekleme ÇalışmasınınAzospermi Tanı Yöntemlerine Göre Hasta Grubu Dağılımı

Bu çalışma ayrıca azospermi teşhisi için bir yöntem içermektedir. Çizelge 4.5'te gösterildiği üzere hastaların bir kısmına Seminal Sıvı Analizi %10,00, diğer kısmına ise Seminal Sıvı Analizi ve testis biyopsisi %90,00 ile tanı konulmuş olup, sonuçlar istatistiksel olarak oldukça anlamlı olmuştur. Farklar, Seminal Sıvı Analizi (SFA), Testis Biyopsisi ve SFA + Testis Biyopsisi alanlar arasında ve her iki grup için oldukça anlmalı ve fazlaydı ($P \leq 0.01$)(Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Örneklemeçalışmasının azospermi tanı yöntemlerine göre hasta grubu dağılımı

Azospermi Tanı Yöntemleri	**Toplam sayı.**	**Yüzde (%)**
Seminal Sıvı Analizi (SFA)	5	10.00
Testis Biyopsisi	0	0.00
SFA + Testis Biyopsisi	45	90.00
P-değeri	---	0.0001 **
** (P≤0.01).		

4.5 ÖrneklemeÇalışmasınında Azospermi Bölgesine Göre Hasta Gruplarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Bu çalışma, Azospermi Bölgesine göre hastalarınyaş gruplarınınsırasıyla dağılımını şu şekilde ortaya koymuştur: 20-30 yaş arası AZFa düzeyi %2.00 ve AZFb için 20-30 yaş %4,00, 31-40 yaş %4,00 ve 40 yaş ve üzeri %2.00 iken, AZFc için 20-30 yaş%30,00, 31-40 yaş %20,00 ve 40 yaş ve üzeri %4,00 olmuştur. Çizelge 4.6'da gösterildiği üzere, AZFc Bölgesindeki sonuç istatistiksel olarak oldukça anlamlı olmuştur. Farklar, AZFa, AZFb ve AZFc alanlar arasında ve her iki grup için oldukça anlmalı ve fazlaydı (P≤0.01) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Örneklemeçalışmasında azospermi bölgesine göre hasta gruplarının yaş gruplarına göre dağılımı

Azospermi Bölgesi	**20-30 yaş (n)**	**20-30 yaş (%)**	**31-40 yaş (n)**	**31-40 yaş (%)**	**40 yaş ve üzeri (n)**	**40 yaş ve üzeri (%)**	**P-değeri**
AZFa	1	%2.00	0	%0.00	0	%0.00	0.712 NS
AZFb	2	%4.00	2	%4.00	1	%2.00	0.593 NS
AZFc	15	%30.00	10	%20.00	2	%4.00	0.0051 **
** (P≤0.01).							

4.6 ÖrneklemeÇalışmasının Azospermi Bölgesine ve Vilayetlere Göre Dağılımı

Bu çalışmada hasta grubu azospermi vilayetlere göre şu şekilde ayrılmıştır: Bağdat vilayetinde düzey %66.00, Al-Anbar vilayetinde düzey %20.00 ve Babil vilayetinde düzey %14.00 idi (Çizelge 4.7)

Çizelge 4.7 Örneklemeçalışmasının azospermi bölgesine ve vilayetlere göre dağılımı

Vilayet	**Hasta sayısı**	**(%)**	***P-değeri***
Bağdat	33	%66	0.0001 **
Al-Anbar	10	%20	0.0298 *
Babil	7	%14	0.0497 *

4.7 IL-1β'de Hastalar ve Kontrol Grupları Arasında Örnekleme Çalışmasının Dağılımı

Bu çalışma, kontrol grubundaki ortalama (IL-1B) ile karşılaştırıldığında, en yüksek interlökin-1beta (IL-1B) ortalamasının Azospermi Hastaları grubunda bulunduğunu ortaya koymuştur. Çizelge 4.8 ve Şekil 4.1'de gösterildiği gibi, bu sonuca göre, hasta gruplarında IL-1B , istatistiksel olarak anlamlıdır.

Çizelge 4.8 IL-1β'de hastalar ve kontrol grupları arasında örnekleme çalışmasının dağılımı

Grup	**IL-1β ( )Ortalama ± SE'si**
Hasta	421.46 ±23.44
Kontrol	382.72 ±15.99
T-testi	36.33 *
P-değeri	0.0475
* (P≤0.05).	

4.8 Il-6'da Hasta ve Kontrol Grupları Arasında Örnekleme Çalışmasının Dağılımı

Mevcut çalışma, Azosperminin Hasta grubu ve kontrol grubunda bulunan interlökin-6 (IL-6) ortalamasının Çizelge 4.9, gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ortaya koymuştur.

Çizelge 4.9 IL-6'da hasta ve kontrol grupları arasında örnekleme çalışmasının dağılımı

Grup	**IL-6 ( ) Ortalama ± SE'si**
Hasta	34.94 ±1.33
Kontrol	34.96 ±1.29
T-testi	3.782 NS
P-değeri	0.991
NS: Anlamlı Değil	

4.9 IL-1β ve IL-6'da Hasta ve Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması

Çizelge 4.10 ve Şekil 4.2'de gösterildiği gibi, her iki grupta da interlökin-6 (IL-6) istatistiksel olarak anlamlı değilken interlökin-1beta(IL-1B)'nin en yüksek ortalaması Azospermi Hasta grubunda (421.46±23.44) bulunmuştur. Bu sonuçT Testi ile istatistiksel olarak anlamlı olmuştur *(P≤0.05).

Çizelge 4.10 IL-1β ve IL-6'da hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması and IL-6

	Ortalama ± SE	
Grup	**IL-1β ( )**	**IL-6 ( )**
Hasta	421.46 ±23.44	34.94 ±1.33
Kontrol	382.72 ±15.99	34.96 ±1.29
T-testi	36.33 *	3.782 NS
P-değeri	0.0475	0.991
* (P≤0.05), NS: Anlamlı Değil		

Çizelge 4.10 gibi, her iki grupta da interlökin-6 (IL-6) istatistiksel olarak anlamlı değilken interlökin-1beta (IL-6)'nin en yüksek ortalaması Azospermi Hasta grubunda (34.94 ±1.33) bulunmuştur. Bu sonuç T Testi ile istatistiksel olarak anlamlı olmuştur *(P≤0.05).

Arap dünyasında evli çiftlerin %10 ila %20'sini etkileyen en önemli halk sağlığı sorunlarından biri erkek infertilitesidir. Bu durumların %50'sinde infertiliteden erkekler sorumludur (Barratt *et al.* 2017).İnsan Y kromozomunda, testis gelişiminin yanı sıra yetişkinlikte spermatogenezin başlaması ve sürdürülmesinde rol oynayan genler bulunur. Spermatojenik başarısızlığın azospermi faktörü (AZF) bölgesindeki Y mikrodelesyonları ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. AZF bölgesini oluşturan üç alt bölge (AZFA, AZFb ve AZFc)dir (Nailwal and Chauhan 2017).

Dünya çapında, Yq mikrodelesyonları steril erkeklerin yüzde 7,5'inde bulunur (Colaco *et al.*2017). Bununla birlikte, Avrupa'daki steril erkeklerin Yq mikrodelesyonlarına (% 3) sahip olma olasılığı daha düşüktür. Dünya çapında yaklaşık 30 milyon erkek infertilite olup, erkek infertilite nişleri öncelikle Orta ve Doğu Avrupa'da (% 8-12) ve aynı zamanda Avustralya (%8–9) en yüksek prevalansa sahiptir (Agarwal *et al.*2015) Ayrıca, infertilite, AZFc lokusunun kısmen silinmesiyle bağlantılıdır, ancak etkinin etnisitye bağlı olduğu görülmektedir.

Erkek faktörü infertilite vakalarının %15-30'unda genetik anormallikler bulunabilir. İnfertil olan veya olmayn erkeklerin seminal plazmasında bulunan ve diğer birçok vücut hücresi tarafından üretilen bir sitokin türü olan İnterlökinlerolarak bilinen proteinler gibi birçok immünolojik faktör Azospermiye sebep olur. İnterlökinlerin birincil işlevi büyüme ve farklılaşmayı modüle etmektir. Bu aracılar seminal sıvıda bulunur ve belirli konsantrasyonlarda bulunmaları vücudun sağlığını yansıtır. Bu durumun bulgularını doğrulamak için uzun vadeli takip verilerine acilen ihtiyaç vardır.

Bu çalışma, Diabetes Mellitus ve Hidrosel hastalıkları gibi kronik hastalıkları olan bazı hastaları içermekte olup, sonuçlar istatistiksel olarak oldukça anlamlı olmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, hasta grubunda Azospermi ve Diabetes Mellitus ve Hidrosel gibi kronik hastalıkları olan hastaların oranı sırasıyla %31.25 ve %68.75 olup, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki söz konusudur. Kronik hastalıklar ve azospermi arasındaki ilişkiyi coğrafi olarak farklı bölgelere göre değişen prevalans oranları ile birçok çalışma bildirmiştir (American Diabetes Association 2013).

Bu ilişki bir dizi diğer küresel çalışma ile uyumludur. Katar'da yapılan bir araştırma, DM ve Azospermi arasında önemli bir ilişki olduğunu ve hem DM hem de infertilitenin, refahı tehlikeye atabilecek ve toplum üzerinde olumsuz etkileri olan yaygın hastalıklar olduğunu ileri sürmektedir (Malhotra *et al.* 2012).

Hiperglisemi ve insülin eksikliği, doğurganlığın azalmasına yol açabilen hipogonadizme ve hiperandrojenizme neden olabilir (Lin*et al*.2018). Çalışmalarda hidrosel için de pozitif sonuç çıkmıştır (7-10) (Dagur*et al*. 2017). İran'da hidrosel %42.7 (Shafabakhsh*et al*. 2019) , Orissa Hindistan'da %93,7 (Babu *et al*. 2001) olarak gerçekleşmiştir. Çoğunluk, DM'yi tespit etmek için kan şekeri testi ve Hidrosel tespiti için seminal sıvı muayenesi veya Testis Biyopsisi yöntemini kullanmıştır. Mevcut çalışma, sonuçlarla aynı fikirde olmamakla beraber, kronik hastalıklar enfeksiyonu ve Azospermi arasındaki ilişkiyi desteklememektedir (Rybar*et al*.2011). Bu varyasyonun bir kısmı farklılık teknikleriyle ve mevcut çalışmadan örnekleme sayısının az olmasıyla açıklanabilir.

Bu çalışma, Azospermi Bölgesi'ndeki hasta grubunu yaş grubuna göre sırasıyla şu şekilde ortaya koymuştur: 20-30 yaş arası AZFa düzeyi %2.00, AZFb 20-30 yaş %4,00, AZFb 31-40 yaş %4,00 ve AZFb 40 yaş ve üzeri %2.00 iken, 20-30 yaş AZFc %30,00, 31-40 yaş AZFc %20,00, 40 yaş ve üzeri AZFc %4,00 olarak gerçekleşmiştir. AZFc Bölgesindeki sonuç istatistiksel olarak oldukça anlamlıy olmuştur. Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre, Azospermi hasta grubunda yüksek düzeyde AZFc Bölgesi varolmakla beraber, bu sonuç Irak, Diyala Vilayetinde yapılan birçok çalışma ile uyumludur (Li*et al*. 2012).

Bağdat'ta Azospermili hasta gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde AZFc %33.3 gösterilmiştir. Ayrıca, Interleukin-1beta ve AZF arasında saptanabilir bir korelasyon söz konusu olmuştur (Huleihel and Lunenfeld2004). Irak, el-Anbar Vilayetinde Y Kromozomu mikrodelesyonu %64 olmuştur (Balkan *et al*.2008).

Çalışmamız, Y kromozomunun AZFc bölgesinin bir delesyona sahip olduğu konusunda hemfikirdir.İran'da, YCM 21-30 yaş grubunda prevalans %12.00'den düşüktür (Krausz

et al.2014).Kuzeydoğu Çin'de YCM'nin yüzde 8,57 olduğu keşfedilmiş olup, Azospermi faktör bölgeleri arasında en sık mikrodelesyon AZFc bölgesinde tespit edilmiş olup, bu durum da bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Türkiye'de YCM olarak vakaların %54'ünde azospermi faktörünün mikrodelesyonlara sahip olduğu bildirilmiştir. Zhu vd.2017'a göre, 2009 ve 2017 yılları arasında 20-39 yaş grubundaki YCM'dir. AZFc bölgesinde yaşa standardize edilmiş mikrodelesyonların en yaygın olduğunu %48,1 keşfetmişlerdir. Sonuç olarak AZFa+b+c'dekiler %20,4, AZFb+c %16,7, AZFb %11,1 ve AZFa %3,7 bölgeleri de bulgularımızla uyumludur (Zhu *et al*. 2017).

Zhu vd.(2017)'a göre, 2009 ve 2017 yılları arasında 20-39 yaş grubundaki (YCM olan) AZFc bölgesinde yaşa göre standardize edilmiş mikrodelesyonların %48.1 olduğu keşfedilmiş olup, sonuç olarak AZFa+b+c'dekiler %20,4, AZFb+c %16,7, AZFb %11,1 ve AZFa %3,7 bölgeleri, bizim bulgularımızla da örtüşmektedir (Zhu *et al*.2017).Mevcut çalışma ABD'de yapılan çalışmalarla uyumlu olup, hastalarda AZFc bölgesinin önemini kanıtlamıştır (Oates *et al*.2002). Mevcut çalışmamız, Rovio (2006)'in en çok enfekte olan bölgelerin AZFb bölgesinin AZFc bölgesinden daha fazla olduğunu destekleyen sonuçlarıyla aynı fikirde değildir.

Bu çalışma, interlökin-1beta(IL-1B)'nin en yüksek ortalamasının Azospermi hasta grubunda bulunduğunu, kontrol grubunda ise (IL-1B) ortalamasının bulunmadığını ortaya koymuştur. Hasta grubundaki (IL-1) sonucu istatistiksel olarak anlamlı olmuştur. Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre, Azospermi Hastalarının serumunda bir IL-1 düzeyi söz konusu olup, bu sonuç İran'daki çalışmalarla uyumludur (Huleihel and Lunenfeld 2004).

Kafkasyalı Erkekler üzerinde yapılan bir araştırma, IL-1 geninin önemli olduğunu göstermektedir. Çin'deki çalışma, önemli ölçüde daha yüksek IL-1B düzeyleri göstermiştir (klinik evre ile yukarıda belirtilen sitokinin serum düzeyleri arasında saptanabilir bir korelasyon söz konusudur). Dünya çapındaki diğer araştırmalar, ELISA yöntemi de dahil olmak üzere farklı tahmin yöntemleri kullanmıştır.Interleukin-1Beta,

agresif yanıtın önemli bir aracısıdır. Bu sitokin, aktive edilmiş makrofajlar tarafından bir proprotein olarak üretilir. Hücre proliferasyonu, varyasyon ve apoptoz gibi bir dizi hücresel aktivitede yer alır. İnterlökin-1 (IL-1), hedef hücrelerin yüzeyinde bulunan ve inflamasyonda önemli bir rol oynayan proinflamatuar bir sitokindir. Bu çalışma, Azospermi hasta grubu ve kontrol grubunda bulunan interlökin-6 (IL-6) ortalamasının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ortaya koymuştur.IL-6 düzeyi ile Azospermi arasında ilişki bulunmamaktadır. Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre, Azospermi hastalarının serumunda normal bir IL-6 söz konusu olup, bu sonuç Irak, Bağdat'ta yapılan çalışmalarla uyumludur(Martínez *et al*. 2008).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, Y Kromozomunun 20-30 yaşları arasında daha yüksek olduğu, ayrıca Bağdat'ta Y kromozomunun diğer iki Anbar ve Babil vilayetlerine göre daha yüksek olduğu sonucuna varıyoruz. AZFc delesyonları, Y kromozomundaki AZFa ve AZFb mikrodelesyonlarından daha yaygındır. Bu çalışmada Interleukin-1 beta(IL-1Beta) ile Y Kromozom mikrodelesyonu arasında bir korelasyon varken, Interleukin-6(IL-6) ile Y Kromozomu mikrodelesyonu arasında bir korelasyon söz konusu değildir.

Irak'ta çeşitli yerlerden alınan örnek sayısı arttırılmalıdır.Çalışma süresi arttırılmalıdır.Rutin bir test ile çiftlerin evlenmeden önce infertilite ön testi yapılmalıdır.Herhangi bir Y Kromozomu mikrodelesyonu şüphesi durumunda sevk sistemi etkinleştirilmeli ve toplumun bilincinin arttırılması için sağlık eğitimi verilmelidir.

AZF mikrodelesyonlarının lokalizasyonunu açıklamak için çeşitli Irak nüfus grupları için Y kromozomu verilerinin incelenmesi önerilmektedir.Genetik sıralayıcı, elektron mikroskobu gibi Y Kromozom Hastalıkları için daha gelişmiş moleküler çalışmalar yapılmalıdır. Kanser, karaciğer yetmezliği ve böbrek yetmezliği gibi diğer klinik hastalıklarla korelasyon aranmalıdır.IL-8, IL10, TNF gibi daha spesifik immünolojik belirteçler kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A. and Chyatte, M. R. 2015. A unique view on male infertility around the globe. Reproductive Biology and Endocrinology,13(1): 1-9.

Al-Janabi, A. M., Rahim, A. I., Faris, S. A., Al-Khafaji, S. M. and Jawad, D. 2020. Prevalence of Y chromosome microdeletion in azoospermic infertile males of Iraqi population. Journal of Genetics , 99(1): 1-5.

Ambulkar, P. S., Sigh, R., Reddy, M. V. R., Varma, P. S., Gupta, D. O., Shende, M. R. and Pal, A. K. 2014. Genetic risk of azoospermia factor (AZF) microdeletions in idiopathic cases of azoospermia and oligozoospermia in central Indian population. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 8(3): 12-16.

American Diabetes Association. 2013. Economic costs of diabetes in the US in 2012. diabetes care 2013; 36: 1033–1046. Diabetes Care, 36(6): 1030-1033.

Babu, B. V., Acharya, A. S., Mallick, G., Jangid, P. K., Nayak, A. N. and Satyanarayana, K. 2001. Lymphatic filariasis in Khurda district of Orissa, India: an epidemiological study. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 32(2): 240-243.

Baker, K. and Sabanegh Jr, E. 2013. Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results. Clinics, 68: 61-73.

Balkan, M., Tekes, S. and Gedik, A. 2008. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with Oligozoospermia and Azoospermia in Southeast Turkey. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 25(11): 559-565.

Bellott, D. W., Hughes, J. F., Skaletsky, H., Brown, L. G., Pyntikova, T., Cho, T. J. and Page, D. C. 2014. Mammalian Y chromosomes retain widely expressed dosage-sensitive regulators. Nature, 508(7497): 494-499.

Boitrelle, F., Guthauser, B., Alter, L., Bailly, M., Wainer, R., Vialard, F. and Selva, J. 2013. The nature of human sperm head vacuoles: a systematic literature review. Basic and Clinical Andrology, 23(1): 1-9.

Brugo-Olmedo, S., Chillik, C., and Kopelman, S. 2001. Definition and causes of infertility. Reproductive Biomedicine Online, 2(1): 173-185.

Castinetti, F., Reynaud, R., Quentien, M. H., Jullien, N., Marquant, E., Rochette, C. and Brue, T. 2015. Combined pituitary hormone deficiency: current and future status. Journal of Endocrinological Investigation, 38(1): 1-12.

Colaco, S. and Modi, D. 2018. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. Reproductive Biology and Endocrinology., 16(1): 1-24.

Colaco, S., Lakdawala, A. and Modi, D. 2017. Role of Y chromosome microdeletions in the clinical evaluation of infertile males. Journal of Medical Sciences, 4: 79-8.

Davis, L. 2012. Basic methods in molecular biology. Elsevier, pp. 399, USA.

Devita, F. P. 2018. Information and Method. Doctoral dissertation, Columbia University, pp. 63, New York.

Dinarello, C. A. 2018. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. Immunological Reviews, 281(1): 8-27.

Dong, Y., Yao, C., Zhu, Y., Yang, L., Luo, D. and Yang, D. 2020. DNA functional materials assembled from branched DNA: design, synthesis, and applications. Chemical Reviews, 120(17): 9420-9481.

Du Plessis, S. S.; KASHOU, A. H.; Bengamin, D. J.; Yadav, S. P. and Agarwal, A. 2011. Proteomics: a subcellular look at spermatozoa. Reproduction Biology Endocrinology, 9: 36.

Edey, A. J., and Sidhu, P. S. 2008. Male infertility: role of imaging in the diagnosis and management. Imaging, 20(2): 139-146.

Fan, Y. and Silber, S. J. 2019. Y chromosome infertility. Seattle, 3: 33-41.

Ferreira, V. L., Borba, H. H., Bonetti, A. D. F., Leonart, L. and Pontarolo, R. 2018. Cytokines and interferons: types and functions. Autoantibodies and Cytokines, 13: 4-8.

Foresta, C., Bettella, A., Spolaore, D., Merico, M., Rossato, M. and Ferlin, A. 2004. Suppression of the high endogenous levels of plasma FSH in infertile men are associated with improved Sertoli cell function as reflected by elevated levels of plasma inhibin B. Human Reproduction, 19(6): 1431-1437.

Hachim, O. A., AL-Salihi, A. R. and AL-Alwachi, S. N. 2015. Study of Interleukin-6 (IL-6) Profile in the Seminal Fluid of Oligozoospermia Men. Iraqi Journal of Embryos and Infertility Researches, 5(1): 2-6.

Hammond, C. M., Strømme, C. B., Huang, H., Patel, D. J. and Groth, A. 2017. Histone chaperone networks shaping chromatin function. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 18(3): 141-158.

Harley, V. R., Clarkson, M. J. and Argentaro, A. 2003. The molecular action and regulation of the testis-determining factors, SRY (sex-determining region on the Y chromosome) and SOX9 [SRY-related high-mobility group (HMG) box 9]. Endocrine Reviews, 24(4): 466-487.

Hayon, S., Moustafa, S., Boylan, C., Kohn, T. P., Peavey, M. and Coward, R. M. 2021. Surgically extracted epididymal sperm from men with obstructive azoospermia results in similar in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection outcomes compared with normal ejaculated sperm. The Journal of Urology, 205(2): 561-567.

Henegariu, O., Hirschmann, P., Kilian, K., Kirsch, S., Lengauer, C., Maiwald, R. and Vogt, P. 1994. Rapid screening of the Y chromosome in idiopathic sterile men, diagnostic for deletions in AZF, a genetic Y factor expressed during spermatogenesis. Andrologia, 26(2): 97-106.

Huleihel, M. and Lunenfeld, E. 2004. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors. Asian Journal of Andrology, 6(3): 259-268.

Ibraimov, A. I., Karagulova, G. O. and Kim, E. Y. 2000. The relationship between the Y chromosome size and the amount of autosomal Q-heterochromatin in human populations. Cytobios, 102(399): 35-53.

Inci, K. and Gunay, L. M. 2013. The role of varicocele treatment in the management of non-obstructive azoospermia. Clinics, 68: 89-98.

Ishikawa, T. 2012. Surgical recovery of sperm in non-obstructive azoospermia. Asian Journal of Andrology, 14(1): 109.

Jarvis, E. D., Formenti, G., Rhie, A., Guarracino, A., Yang, C., Wood, J. and Miga, K. H. 2022. Semi-automated assembly of high-quality diploid human reference genomes. Nature, pp. 1-13.

Krausz, C. 2011. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism, 25(2): 271-285.

Krausz, C. and Casamonti, E. 2017. Spermatogenic failure and the Y chromosome. Human Genetics, 136(5): 637-655.

Krausz, C., Hoefsloot, L., Simoni, M. and Tüttelmann, F. 2014. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. Andrology, 2(1): 5-19.

Kucukler, S., Caglayan, C., Darendelioğlu, E., and Kandemir, F. M. (2020). Morin attenuates acrylamide-induced testicular toxicity in rats by regulating the NF-κB, Bax/Bcl-2 and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways. Life Sciences, 261: 118301.

Kumar, A. 2006. Botany for Degree Gymnosperm (Multicolor ed.). S. Chand Publishing, pp. 261, UK.

Lahn, B. T., Pearson, N. M. and Jegalian, K. 2001. The human Y chromosome, in the light of evolution. Nature Reviews Genetics, 2(3): 207-216.

Lehti, M. S. and Sironen, A. 2017. Formation and function of sperm tail structures in association with sperm motility defects. Biology of Reproduction, 97(4): 522-536.

L'Hernault, S. W. 2006. Spermatogenesis. Research Community WormBoo, 3: 12-17.

Li, D., Zhang, H., Wang, R., Zhu, H., Li, L. and Liu, R. 2012. Chromosomal abnormalities in men with pregestational and gestational infertility in northeast China. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 29(8): 829-836.

Lin, Y. H., Chen, K. J., Peng, Y. S., Chen, P. C. and Yang, Y. H. 2018. Type 1 diabetes impairs female fertility even before it is diagnosed. Diabetes Research and Clinical Practice, 143: 151-158.

Malhotra, N., Puri, R., Malhotra, J., Kurjak, A. and Chervenak, F. A. 2012. Donald School Manual of Practical Problems in Obstetrics. Medical, pp. 788, USA.

Martínez-Garza, S. G., Gallegos-Rivas, M. C., Vargas-Maciel, M., Rubio-Rubio, J. M., de los Monteros-Rodríguez, M. E., González-Ortega, C. and Gutiérrez-Gutiérrez, A. M. 2008. Genetic screening in infertile Mexican men: chromosomal abnormalities, Y chromosome deletions, and androgen receptor CAG repeat length. Journal of Andrology, 29(6): 654-660.

Mitra, A., Dada, R., Kumar, R., Gupta, N. P., Kucheria, K. and Gupta, S. K. 2006. Y chromosome microdeletions in azoospermic patients with Klinefelter's syndrome. Asian journal of Andrology, 8(1): 81-88.

Mozdarani, H., Ghoraeian, P., Mozdarani, S., Fallahi, P. and Mohseni-Meybodi, A. 2018. High frequency of de novo DAZ microdeletion in sperm nuclei of subfertile men: possible involvement of genome instability in idiopathic male infertility. Human Fertility, 21(2): 137-145.

Navarro-Costa, P., Plancha, C. E. and Gonçalves, J. 2010. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility?. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 3: 6-12.

Oates, R. D., Silber, S., Brown, L. G. and Page, D. C. 2002. Clinical characterization of 42 oligospermic or azoospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. Human Reproduction, 17(11): 2813-2824.

O'Donnell, L., Stanton, P. and de Kretser, D. M. 2015. Endocrinology of the male reproductive system and spermatogenesis. South Dartmouth, pp. 22-28.

Operondx, 2016. Web site. https://operondx.com/wp-content/uploads/pdf/09051017%20PST60-HL_EN.pdf. Date of Access: 02.12.2022.

Patel, A. S., Leong, J. Y., Ramos, L. and Ramasamy, R. 2019. Testosterone is a contraceptive and should not be used in men who desire fertility. The World Journal of Men's Health, 37(1): 45-54.

Promega, 2012. Web site. https://worldwide.promega.com/products/nucleic-acid-extraction/genomic-dna/. Date of access: 03.12.2022.

Raman, J. D., and Schlegel, P. N. 2003. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection is successful for the treatment of nonobstructive azoospermia associated with cryptorchidism. The Journal of Urology, 170(4): 1287-1290.

Rauchfuss, L. M. K., Kim, T., Bleess, J. L., Ziegelmann, M. J. and Shenoy, C. C. 2021. Testicular sperm extraction vs. ejaculated sperm use for nonazoospermic male factor infertility. Fertility and Sterility, 116(4): 963-970.

Roozbeh, N., Rostami, S. and Abdi, F. 2016. A review on herbal medicine with fertility and infertility characteristics in males. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility, 19(13): 18-32.

Roushan, T., Ahmed, D., and Ali, M. R. (2014). Human Genome Project-A Review. Medicine Today, 26(1): 53-55.

Rovio, A. 2006. DNA Polymerase Gamma Mutations in Male Infertility and Ageing. Tampere University Press, pp. 137, Finland.

Rupp, T.J. and Leslie, S.W. 2022 Epididymitis. StatPearls Publishing Treasure Island, pp. 3-7.

Rybar, R., Kopecka, V., Prinosilova, P., Markova, P. and Rubes, J. 2011. Male obesity and age in relationship to semen parameters and sperm chromatin integrity. Andrologia, 43(4): 286-291.

Seshadri, S., Bates, M., Vince, G., and Jones, D. L. (2009). The role of cytokine expression in different subgroups of subfertile men. American Journal ofReproductive Immunology, 62(5): 275-282.

Shafabakhsh, M., Sadeghian, H., Ehramposh, M. H., Aflatoonian, A., Dehghani, A. and Ghaneian, M. T. 2019. The relationship of smoking, alcohol, and drugs consumption on the quality of semen parameters in males referring to the infertility center of Yazd in 2016. Tolooebehdasht, 17(5): 44-54.

Shaqalaih, A. J., Halima, M. S. A., Ashour, M. J. and Sharif, F. A. 2009. Screening for Y-chromosome microdeletions in a population of infertile males in the Gaza Strip. Journal of Experimental and Clinical Assisted Reproduction, 6: 22-26.

Sharkey, D. J., Macpherson, A. M., Tremellen, K. P. and Robertson, S. A. 2007. Seminal plasma differentially regulates inflammatory cytokine gene expression in human cervical and vaginal epithelial cells. Molecular Human Reproduction, 13(7): 491-501.

Skakkebaek, N. E., Rajpert-De Meyts, E., Buck Louis, G. M., Toppari, J., Andersson, A. M., Eisenberg, M. L. and Juul, A. 2016. Male reproductive disorders and fertility trends: influences of environment and genetic susceptibility. Physiological Reviews, 96(1): 55-97.

Subrini, J. and Turner, J. 2021. Y chromosome functions in mammalian spermatogenesis. Elife, 10: e67345.

Suganthi, R., Vijesh, V. V., Vandana, N. and Benazir, J. F. A. 2014. Y choromosomal microdeletion screening in the workup of male infertility and its current status in India. International Journal of Fertility and Sterility, 7(4): 245-253.

Tanaka, T., Narazaki, M. and Kishimoto, T. 2014. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 6(10): 016295.

Telöken, C., Juncal, S. and Graziottin, T. M. 2012. Environmental Factors. In: Male Infertility. Springer, pp. 283-295, New York.

Vakalopoulos, I., Dimou, P., Anagnostou, I. and Zeginiadou, T. 2015. Impact of cancer and cancer treatment on male fertility. Hormones, 14(4): 579-589.Vollrath, D., Foote, S., Hilton, A., Brown, L. G., Beer-Romero, P., Bogan, J. S. and Page, D. C. 1992. The human Y chromosome: a 43-interval map based on naturally occurring deletions. Science, 258(5079): 52-59.

Wade, N. 2010. Male Chromosome May Evolve Fastest. New York Times press, pp. 318, USA.

Yu, X. W., Wei, Z. T., Jiang, Y. T. and Zhang, S. L. 2015. Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and transmission characteristics in azoospermic and severe oligozoospermic patients. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 8(9): 3-9.

Zhang, Y. S., Dai, R. L., Wang, R. X., Zhang, H. G., Chen, S. and Liu, R. Z. 2013. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from northeastern China. Urology, 82(3): 584-588.

Zhu, X. B., Gong, Y. H., He, J., Guo, A. L., Zhi, E. L., Yao, J. E. and Li, Z. 2017. Multicentre study of Y chromosome microdeletions in 1,808 Chinese infertile males using multiplex and real-time polymerase chain reaction. Andrologia, 49(5): 6-11.

EKLER

EK 1. Araştırma sırasında kullanılan tüm araç ve gereçler

EK 1. Araştırma sırasında kullanılan tüm araç ve gereçler

No.	Araç/ Gereç	Şirket	Menşei Ülke
1	Mikro200 Santrifüj	Hettich	Almanya
2	Vorteks	IKA	Almanya
3	İnkübatör	Memert	Almanya
4	UV ışık transilümatörü	Ultra Violet Products institute	ABD
5	Benmzri	Klostermann	Almanya
6	PCR Kabini	Analytik jena	Almanya
7	TSC Termo-çalkalayıcı	Biometra	Almanya
8	Termo - çalkalayıcı PST- 60 HL	Biosan	Almanya
9	Döndürme filtresi	Analytik jena	Almanya
10	Mikropipet (10,100,200,1000)µL	Slammed	Japona
11	Buzdolabı	LG	Kore
12	Dondurucu (-20℃)	Froilabo	Fransa
13	Okuyucu (ELISA)	Biotex	ABD
14	Yıkayıcı (ELISA)	Biotex	ABD
15	Yazıcı	Epson	Endonezya
16	Soğutma kutuları/ICE paketi		
17	Düz tüp/sarı ve mavi kapaklı		Ürdün
18	Eppendorf tüpleri (500µL)		
19	Etanol %68.6 ve metanol %3.7	Areej	BAE
20	Jel ve Pıhtı aktivatör Tüpü		
21	Vakum (EDTA tüpü)		
22	Eldivenler	Pro Vi	Malezya
23	Durdurma saati		Çin
24	Turnike		Çin

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Mustafa Nadheer Khamees AL-ANI

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2023-Halen
Lisans	Al-Mamoun Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar Teknolojileri Anabilim Dalı	2010-2014

2016-2018	Kalite Kontrol Müdürü Dubai İlaç Fabrikası	İlaç kalite kontrolü