



Identification of Y chromosome microdeletions in infertile Turkish men *İnfertil Türk erkeklerinde Y kromozomu mikrolelesyonlarının saptanması*

Ali Şahin Küçükbaşlan¹, Vildan Bozok Çetintaş¹, Raşit Altıntaş², Aslı Tetik Vardarlı¹, Zeynep Mutlu¹, Murat Ulukuş³, Bülent Semerci², Zuhale Eroğlu¹

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to determine the frequencies of Y chromosome microdeletions in infertile azoospermic and oligozoospermic Turkish men and in healthy control subjects.

Material and methods: Sixty-four azoospermic and 51 oligozoospermic patients with infertility and 70 healthy men who had a child naturally without assisted reproductive technology were included in this study. DNA was extracted from peripheral blood samples collected from the patients. Following multiplex PCR performed with 15 different primer sequences, Y chromosome AZFa, AZFb, AZFc and AZFd region microdeletions were determined by agarose gel electrophoresis.

Results: Y chromosome microdeletions were detected in 8 (12.5%) patients in the azoospermia group and 3 (5.9%) patients in the oligozoospermia group. The overall prevalence of Y chromosome microdeletions in infertile men was 9.6%. Y chromosome microdeletions were not found in the healthy control group. Among the infertile cases, there were 4 (3.48%) AZFa, 2 (1.74%) AZFb, 3 (2.61%) AZFc and 7 (6.09%) AZFd region microdeletions.

Conclusion: The presence of Y chromosome microdeletions among azoospermic and oligozoospermic infertile males suggests that routine genetic testing and genetic counseling prior to the use of assisted reproduction techniques are necessary.

Key words: AZFa; AZFb; AZFc; AZFd; male infertility; Y chromosome microdeletion.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı azospermik ve oligozoospermik infertil Türk erkeklerinde ve sağlıklı kontrol olgularında Y kromozom mikrolelesyonlarının sıklıklarının belirlenmesidir.

Gereç ve yöntemler: Bu çalışmaya 64 azospermik ve 51 oligozoospermik infertilite olgusu ve herhangi bir yardımcı üreme tekniği olmadan doğal yollardan çocuk sahibi olduğu bilinen 70 sağlıklı erkek dahil edildi. Olguların periferik kan örnekleri toplanarak DNA izolasyonu yapıldı. On beş farklı primer dizisi kullanılarak gerçekleştirilen multipleks PCR işleminden sonra agaroz jel elektroforezi ile Y kromozomunun AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd bölge mikrolelesyonları belirlendi.

Bulgular: Azospermi grubundaki 8 (%12,5) olguda ve oligozoospermi grubundaki 3 (%5,9) olguda Y kromozom mikrolelesyonu belirlendi. İnfertil olguların tümü değerlendirildiğinde ise mikrolelesyon oranı %9,6 olarak bulundu. İnfertilite olgularının 4'ünde (%3,48) AZFa, 2'sinde (%1,74) AZFb, 3'ünde (%2,61) AZFc ve 7'sinde (%6,09) AZFd bölge delesyonu saptandı. Kontrol grubundaki sağlıklı olgularda ise Y kromozom mikrolelesyonu belirlenmedi.

Sonuç: Azospermik ve oligozoospermik infertil erkeklerde Y kromozom mikrolelesyonlarının bulunması nedeniyle yardımcı üreme teknikleri öncesinde rutin genetik testler yapılması ve genetik danışmanlık verilmesi gerektiğini önermekteyiz.

Anahtar sözcükler: AZFa; AZFb; AZFc; AZFd; erkek infertilitesi; Y kromozom mikrolelesyonu.

Giriş

Korunmasız düzenli ilişki sonucu 1 yıl içinde gebeliğin başlanamaması olarak tanımlanan infertilite evli çiftlerin yaklaşık %15'inde görül-

mektedir.^[1] Bu olguların ortalama olarak %50'si erkek faktörüne bağlı infertilite olgularıdır. Erkek infertilitesine neden olan genetik faktörler i) kromozomal aneuploidiler, ii) mikrolelesyonlar ve iii) tek gen defektleri olarak sıralanmaktadır.^[2]

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

²Department of Urology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

³Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

Submitted:
10.01.2013

Accepted:
02.04.2013

Correspondence:
Vildan Bozok Çetintaş
Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ege University, 35500 İzmir, Turkey
Phone: +90 232 390 22 60
E-mail: vildanbozokcetintas@gmail.com

©Copyright 2013 by Turkish Association of Urology

Available online at
www.turkishjournalofurology.com

İlk kez 1976 yılında Tiepolo ve Zuffardi tarafından infertil erkeklerde Y kromozomunun uzun kolunda delesyon belirlenmesi sonucu Azospermi faktör bölgesi (AZF) tanımı yapılmıştır.^[3] Sonraki çalışmalar AZF bölgesinin, erkek germ hücrelerinin proliferasyonunda ve farklılaşmasında önemli fonksiyonları olan genlerin kodlandığı bölge olduğunu göstermiştir. AZF bölgesi AZFa (proksimal), AZFb (orta), AZFc (distal) ve AZFd (AZFb ve AZFc arası) şeklinde birbiri ile örtüşmeyen dört alt bölgeye ayrılmaktadır.^[4,5] Bu bölgelerde oluşan mikrodelsiyonlara bağlı olarak farklı fenotipik sonuçlar ortaya çıkabilmektedir.^[6]

AZFa mikrodelsiyonları germinal aplazi (Sertoli cell only syndrome, SCOS) ile ilişkilendirilmektedir.^[7] Geniş AZFb delesyon bölgesine sahip olgularda azospermi gözlenirken kısmi AZFb delesyonunda hafif ve ağır oligozoospermi fenotipleri oluşabilmektedir.^[8] AZFc bölgesinde meydana gelen delesyonlar tip II SCOS ya da hipospermatogenezis nedeni olabilmektedir.^[9] AZFd delesyonları ise hafif oligozoospermi oluşumu ya da normal sperm sayısına rağmen anormal sperm morfolojisi ile ortaya çıkabilmektedir.^[10]

İnfertil olgularda Y kromozom mikrodelsiyonlarının oranı %1 ve %55 arasında bildirilmektedir.^[8,11] Normal erkek popülasyonunda ise bu oran %0,7-%1 arasındadır.^[12] Bu çalışmada infertil azospermi ve oligozoospermi olgularında ve sağlıklı kontrol grubunda Y kromozom mikrodelsiyonlarının analiz edilerek karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler

Bu çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Androloji polikliniğine infertilite nedeniyle başvuran azospermi tanısı almış 64 olgu ile oligozoospermi tanısı almış 51 olgu ve herhangi bir yardımcı üreme tekniği olmadan doğal yollardan çocuk sahibi olduğu bilinen 70 sağlıklı erkek olmak üzere toplam 185 olgudan oluşturuldu. Olguların her birinden EDTA'lı tüplere 3 mL kan örneği alındı ve tıbbi özgeçmişleri ile ilgili sorular sorularak kaydedildi. Çalışma protokolümüz Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından 04.06.2008 tarihli ve 08-3/9 sayılı karar ile onaylandı. Kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olguların periferik kan örneklerinden High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Applied Science) kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Y mikrodelsiyon analizi için tüm AZF bölgelerindeki 14 adet mikrodelsiyonun ve Y kromozomu üzerindeki SRY bölgesinin saptanmasında gerekli olan STS (sY84, sY82, sY255, sY134, sY127, sY142, sY153, sY254, sY141, sY158, sY152, sY86, QX7, sY233) bölgelerine özgül primerleri içeren AZOpleks IV AZF belirleme kiti kullanıldı (Diagen).

Her olgu için 4 ayrı PCR karışımı hazırlandı. PCR protokolü; denatürasyon (94°C, 15 dk), amplifikasyon (10 döngü; denatü-

rasyon (94°C, 15 sn), bağlanma (61°C, 30 sn), polimerizasyon (72°C, 45 sn), 25 döngü; denatürasyon (94°C, 15 sn), bağlanma (59°C, 30 sn), polimerizasyon (72°C, 45 sn)), polimerizasyon (72°C, 4 dk) şeklinde gerçekleştirildi. Daha sonra PCR ürünleri %3'lük agaroz jel elektroforezi ile görüntülendi ve PCR karışımlarının içerdiği STS bölgelerine özgül PCR ürünlerinin büyüklükleri değerlendirildi.

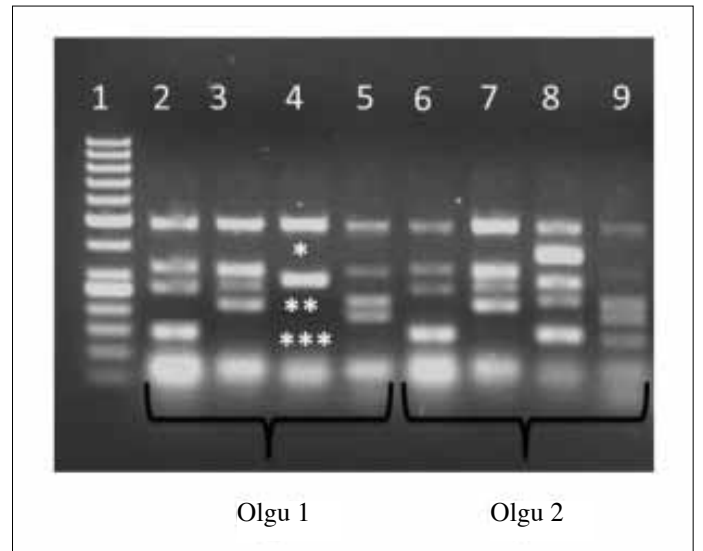
İstatistiksel analiz

Azospermi, oligozoospermi ve kontrol gruplarında Y mikrodelsiyon bulguları Fisher's Exact Test ve çok gözlü ki kare testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular

Bu çalışmaya 70 sağlıklı kontrol, 64 azospermi ve 51 oligozoospermi olgusu dahil edilerek Y kromozom mikrodelsiyonları analiz edildi. Kontrol, azospermi ve oligozoospermi gruplarının yaş ortalamaları sırasıyla 40,48±8,38; 35,46±4,82 ve 36,80±5,39 olarak saptandı.

Azospermi ve oligozoospermi gruplarındaki Y kromozom mikrodelsiyon bulguları Tablo 1'de gösterildiği şekilde belirlendi. Azospermi grubundaki 64 infertil olgunun 8'inde (%12,5, %95 CI: %1,35-%14,65), oligozoospermi grubundaki 51 olgunun 3'ünde (%5,9, %95 CI: %1,68-%7,68) Y kromozom mikrodelsiyonu belirlendi (Tablo 1, Şekil 1). İnfertil olguların tümü değerlendirildiğinde ise mikrodelsiyon oranının %9,6 olduğu belirlendi. Azospermi, oligozoospermi ve kontrol grupları karşılaştırıldığında Y mikrodelsiyonu taşıma



Şekil 1. Multipleks PCR analiz sonuçları; 1. Sıra: 50 baz çift molekül ağırlıklı marker; 2-5. sıralar Olgu 1; 6-9 sıralar Olgu 2. Olgu 1'de sY254*, sY158** ve sY152*** bölgelerinde delesyon bulunmuştur. Olgu 2'de delesyon belirlenmemiştir.

Tablo 1. Azospermi ve oligozoospermi olgularında belirlenen AZF bölge delesyonları

		AZFa			AZFb				AZFc			AZFd			
		sY(82)	sY(84)	sY(86)	sY127	sY134	sY142	sY141	sY158	sY233	sY254	sY255	QX7	sY152	sY153
Azospermi	Olgu 1			x											
	Olgu 2			x											
	Olgu 3			x											
	Olgu 4				x	x									
	Olgu 5								x		x			x	
	Olgu 6								x	x	x			x	x
	Olgu 7														x
	Olgu 8	x	x		x	x	x	x	x		x			x	x
Oligozoospermi	Olgu 9													x	
	Olgu 10													x	
	Olgu 11													x	
AZF: Azospermi faktör bölgesi															

AZF: Azospermi faktör bölgesi

Tablo 2. Azospermi, oligozoospermi ve kontrol olgularında mikrolelesyon oranlarının karşılaştırılması

Grup	Mikrolelesyon (+)	Mikrolelesyon (-)	p
Azospermi (n=64)	8 %12,5	56 %87,5	0,004
Oligozoospermi (n=51)	3 %5,9	48 %94,1	
Kontrol (n=70)	0 %0	70 %100	

oranının azospermi ve oligozoospermi gruplarında anlamlı olarak arttığı (p=0,004, Tablo 2), tüm infertil olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında benzer şekilde bu oranın olgu grubunda anlamlı olarak arttığı belirlendi (p=0,007, Tablo 3). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, azospermili olgularda y mikrolelesyonu taşıma oranının anlamlı olarak arttığı (p=0,002) ancak oligozoospermili olgularda anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (p=0,072).

İnfertilite olgularının 4'ünde (%3,48) AZFa, 2'sinde (%1,74) AZFb, 3'ünde (%2,61) AZFc ve 7'sinde (%6,09) AZFd bölge delesyonu saptandı. Azospermi grubundaki bir olgunun tüm AZF bölgelerinde, 2 olgunun AZFc ve AZFd bölgelerinin her ikisinde mikrolelesyon bulundu. Yedi infertilite olgusunda ise sadece tek bir AZF bölgesinde mikrolelesyon belirlendi.

Çalışmamıza dâhil edilen 70 sağlıklı kontrol olgusunda Y kromozom mikrolelesyonu saptanmadı.

Tablo 3. İnfertil (azospermi + oligozoospermi) ve kontrol gruplarında mikrolelesyon oranlarının karşılaştırılması

Grup	Mikrolelesyon (+)	Mikrolelesyon (-)	p
İnfertil (n=115)	11 %9,6	104 %90,4	0,007
Kontrol (n=70)	0 %0	70 %100	

Tartışma

Çalışmamızda infertil Türk erkeklerinde görülen AZF mikrolelesyonlarının sıklıklarının araştırılması amaçlanmış ve infertil olguların %9,6'sının Y kromozom mikrolelesyonu taşıdığı saptanmıştır. Ancak çalışmamıza dâhil edilen bu olgularda kromozom aneuploidileri değerlendirilememiştir.

Y kromozom mikrolelesyonları spermatogenez sürecinde bozukluklara neden olmakta ve normal sperm oluşumunu olumsuz yönde etkilemektedir. Delesyonların sıklıkları çalışılan popülasyonun etnik ve jeografik dağılımına göre farklılık gösterebilmektedir.^[13] Y kromozom mikrolelesyonları Türk popülasyonunda yapılan Balkan ve ark.'nın^[12] çalışmasında %1,3, Sargın ve ark.'nın^[14] çalışmasında %3,3, Akın ve ark.'nın^[15] çalışmasında %3,93, Tağa'nın^[16] tez çalışmasında %6,3, Çetinkaya'nın^[17] tez çalışmasında %9,09, Müslümanoğlu ve ark.'nın^[18] çalışmasında ise %22,64 olarak bildirilmiştir. Diğer popülasyonlarda ise Y kromozom mikrolelesyon oranı %1 ve %55 arasında rapor edilmektedir.^[11,19]

Y kromozom mikrolelesyonlarının araştırıldığı çalışmaların büyük bir kısmında AZFd bölgesi analiz edilmemiştir.^[14-17] Bizim çalışmamızda ise AZFd bölgesi de analiz edilerek infertil olguların %6,09'unda delesyona uğradığı belirlenmiştir. AZFb ve AZFc arasında kalan AZFd bölgesi Ken-First ve ark.^[4] tarafından tanımlanmıştır. İnfertil olgularda AZFd bölge delesyonunun sıklığı %15,1 olarak bildirilmektedir.^[18] Bizim çalışmamızda bu oran %6,08 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda 3 (%5,88) azospermi olgusunda AZFc mikrolelesyonu saptanmıştır. AZFc delesyonlarının spermatogenez sürecini etkilediği ancak her zaman infertiliteye neden olmadığı bildirilmektedir. AZFc mikrolelesyonu bulunan azospermik olgularda testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ile sperm alma ve fertilizasyon sağlama şansı oldukça yüksektir. Ancak bu olguların erkek çocuklarının da AZFc delesyonu taşıyacağı unutulmamalıdır.^[20] AZFa veya AZFb bölgelerinin tam delesyonu genellikle germ hücrelerinin tamamen kaybedilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle TESE ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulamaları bu olgularda başarılı değildir. Kısmi AZFb delesyonunda ise TESE ile spermatozoa bulma şansının %50 olduğu bildirilmektedir.^[5]

Testiste eksprese edilen toplam 31 Y kromozom geninden 14 tanesinin fonksiyonları tanımlanmış ancak 17 tanesinin henüz fonksiyonları belirlenmemiştir.^[21] Y kromozomunun AZFb proksimal bölgesi CDY2, RPS4Y2 ve XKRY, distal-AZFb/proksimal-AZFc bölgesi BPY2.1, CDY1.1, DAZ1, DAZ2 genlerini içermektedir. AZFc bölgesinde ise sadece iki gen (CSPG4LY, GOLGA2LY) kodlanmaktadır. Bu açıdan AZFb mikrolelesyonlarının AZFc mikrolelesyonlarından daha fazla testiküler patolojilere neden olduğu düşünülmektedir. DAZ (Deleted in Azoospermia) gen ailesi gonadlarda eksprese edilmekte ve germ hücrelerinin gelişiminde önemli fonksiyonları bulunmaktadır. AZFc bölgesinde bulunan DAZ genlerinin azospermik erkeklerin %12-15'inde delesyona uğradığı bildirilmektedir.^[9] Bizim çalışmamızda ise 3 (%5,88) azospermi olgusunda DAZ delesyonu belirlenmiştir.

Son yıllarda TESE ve ICSI uygulamaları sayesinde oligozoospermik ve azospermik olgulardan sperm alınarak fertilizasyon sağlanabilmektedir. Ancak Y kromozom mikrolelesyonu taşıyan olgularda TESE yöntemi ile sperm elde etme başarısının %10 olduğu belirtilmiştir.^[17] Ayrıca bu işlem spermelerin doğal seleksiyon yoluyla seçilmesi sürecinin baypas edilmesi nedeniyle genetik anomalilerin de sonraki kuşağa aktarılma riskini taşımaktadır. Cram ve ark.'nın^[22] çalışmasında, ICSI uygulaması sonrasında Y mikrolelesyonlarının babadan oğula geçtiği bildirilmektedir. Bu bakımdan ICSI uygulamalarından önce kromozom anomalilerin ve AZF bölge mikrolelesyonlarının belirlenmesi ve bu konuda genetik danışmanlık verilmesi oldukça önem taşımaktadır.

Üroloji kılavuz kitapçıklarında, azospermik ve/veya ağır oligozoospermik infertil olgularda Y kromozom mikroleles-

yonlarının araştırılmasının, standart yapılması gereken bir test olduğu belirtilmektedir.^[20] Mikrolelesyonların tanısında standardizasyonun ve kalite kontrolün sağlanması amacıyla Avrupa Androloji Akademisi ve Avrupa Moleküler Genetik Kalite Network grubu tarafından bir kılavuz yayınlanmıştır.^[20] Bu kılavuzun kullanılmaya başlanması ile birlikte Y kromozomunun dizisi, mikrolelesyonların oluşma mekanizması gibi konularda daha fazla bilgi edinilebilmiştir. Kılavuzda infertil olgularda bakılması önerilen delesyonlar AZFa (sY84, sY86), AZFb (sY127, sY134) ve AZFc (sY254, sY255) bölgeleridir. Çalışmamızda bu kılavuzda önerilen STS bölgelerine ek olarak AZFa (sY82), AZFb (sY142), AZFc (sY141, sY158, sY233, QX7) ve AZFd (sY152, sY153) bölgeleri de analiz edilmiş ve QX7 dışında bu bölgelerin hepsinde Türk popülasyonunda delesyon olabileceği gözlenmiştir. Kılavuzda önerilmeyen bölgelerdeki delesyon oranı tüm delesyonların %59,26' sını olup bunun en büyük kısmını AZFd delesyonları oluşturmaktadır. Müslümanoğlu ve ark.^[18] tarafından yapılan bir çalışmada da AZFd bölgesinde delesyon oranının %15,1 olarak bildirilmiş ve bu olgularda matürasyon arresti ve sertoli cell only sendromu rapor edilmiştir. Bu bakımdan Türk popülasyonu açısından kılavuzun yetersiz kaldığı ve özellikle AZFd bölgesinin de rutin analizlere eklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Ege University School of Medicine (04.06.2008, 08-3/9).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

Author Contributions

Concept - M.U., B.S., Z.E.; Design - M.U., B.S., Z.E.; Supervision - Z.E.; Funding - Z.E.; Materials - R.A., M.U., B.S.; Data Collection and/or Processing - V.B.C.; Analysis and/or Interpretation - A.Ş.K., A.T.V., Z.M.; Literature Review - A.Ş.K., V.B.Ç.; Writer - A.Ş.K., V.B.Ç.; Critical Review - Z.E.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Hakem değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite olayı Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan (04.06.2008, 08-3/9) alınmıştır.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Yazar Katkıları

Fikir - M.U., B.S., Z.E.; Tasarım - M.U., B.S., Z.E.; Denetleme - Z.E.; Kaynaklar - Z.E.; Malzemeler - R.A., M.U., B.S.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - V.B.C.; Analiz ve/veya yorum - A.Ş.K., A.T.V., Z.M.; Literatür taraması - A.Ş.K., V.B.Ç.; Yazıyı yazan - A.Ş.K., V.B.Ç.; Eleştirel İnceleme - Z.E.

Kaynaklar

1. Iammarrone E, Balet R, Lower AM, Gillott C, Grudzinskas JG. Male infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17:211-29. [\[CrossRef\]](#)
2. Vogt PH. Molecular genetics of human male infertility: from genes to new therapeutic perspectives. *Curr Pharm Des* 2004;10:471-500. [\[CrossRef\]](#)
3. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34:119-24. [\[CrossRef\]](#)
4. Kent-First M, Muallem A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Noltén W, et al. Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol Reprod Dev* 1999;53:27-41. [\[CrossRef\]](#)
5. Vogt PH. Azoospermia factor (AZF) in Yq11: towards a molecular understanding of its function for human male fertility and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online* 2005;10:81-93. [\[CrossRef\]](#)
6. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996;5:933-43. [\[CrossRef\]](#)
7. Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J* 2009;50:336-47.
8. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001;22:226-39. [\[CrossRef\]](#)
9. Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet* 1995;10:383-93. [\[CrossRef\]](#)
10. Ceylan GG, Ceylan C, Elyas H. Genetic anomalies in patients with severe oligozoospermia and azoospermia in eastern Turkey: a prospective study. *Genet Mol Res* 2009;8:915-22. [\[CrossRef\]](#)
11. van der Ven K, Montag M, Peschka B, Leygraaf J, Schwanitz G, Haidl G, et al. Combined cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening in males undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Mol Hum Reprod* 1997;3:699-704. [\[CrossRef\]](#)
12. Balkan M, Tekes S, Gedik A. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with Oligozoospermia and Azoospermia in Southeast Turkey. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:559-65. [\[CrossRef\]](#)
13. Krausz C, McElreavey K. Y chromosome microdeletions in 'fertile' males. *Hum Reprod* 2001;16:1306-7. [\[CrossRef\]](#)
14. Sargin CF, Berker-Karauzum S, Manguoglu E, Erdogan T, Karaveli S, Gulkesen KH, et al. AZF microdeletions on the Y chromosome of infertile men from Turkey. *Ann Genet* 2004;47:61-8. [\[CrossRef\]](#)
15. Akin H, Onay H, Turker E, Ozkinay F. Primary male infertility in Izmir/Turkey: a cytogenetic and molecular study of 187 infertile Turkish patients. *J Assist Reprod Genet* 2011;28:419-23. [\[CrossRef\]](#)
16. Tağa S, Danışman: Dikmen N. Çukurova bölgesindeki infertil erkeklerde y kromozomu (Azf genleri) mikrolelesyonlarının saptanması. Çukurova Üniversitesi Sağ. Bil. Ens. Doktora Tezi 2008.
17. Çetinkaya M, Danışman: Önder AU. Azoospermik infertil türk erkeklerinde y-kromozom mikrolelesyon sıklığının araştırılması ve yorumlanması. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi 2008.
18. Muslumanoglu MH, Turgut M, Cilingir O, Can C, Ozyurek Y, Artan S. Role of the AZFd locus in spermatogenesis. *Fertil Steril* 2005;84:519-22. [\[CrossRef\]](#)
19. Foresta C, Ferlin A, Garolla A, Moro E, Pistorello M, Barbaux S, et al. High frequency of well-defined Y-chromosome deletions in idiopathic Sertoli cell-only syndrome. *Hum Reprod* 1998;13:302-7. [\[CrossRef\]](#)
20. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl* 2004;27:240-9. [\[CrossRef\]](#)
21. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, et al. Y chromosome analysis of infertile men and their sons conceived through intracytoplasmic sperm injection: vertical transmission of deletions and rarity of de novo deletions. *Fertil Steril* 2000;74:909-15. [\[CrossRef\]](#)
22. Cram DS, Ma K, Bhasin S, Arias J, Pandjaitan M, Chu B, et al. Y chromosome analysis of infertile men and their sons conceived through intracytoplasmic sperm injection: vertical transmission of deletions and rarity of de novo deletions. *Fertil Steril* 2000;74:909-15. [\[CrossRef\]](#)