

İnfertil erkek hastalarda karyotip analizi ve Y kromozom mikrolelesyon analiz sonuçları

Karyotype analysis and Y chromosome microdeletion analysis results in infertile male patients

Derya Karaer, Bahtiyar Şahinoğlu, Abdullah İhsan Gürler, Kadri Karaer

Gönderilme tarihi:11.01.2021

Kabul tarihi:17.03.2021

Öz

Amaç: İnfertilite çiftlerin %15'inde görülen bir problemdir. Oligozoospermi ve azospermi kaynaklı erkek infertilitesi tanısı alanların %30'unun etiolojisinde genetik nedenler sorumludur. Bu retrospektif çalışmada, merkezimize başvuran infertil erkeklerde yardımcı üreme teknikleri uygulanmadan önce hem kromozomal yapının belirlenmesi hem de Y kromozomu üzerindeki azospermik faktör (AZF) bölgesinin mikrolelesyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Laboratuvarımıza rutin analizler için başvuran 675 hasta çalışıldı. Bu hastalardan konvansiyonel sitogenetik yöntemle periferik kandan kromozom analizi yapıldı ve Y kromozom mikrolelesyon belirleme kiti kullanılarak fragman analizi yöntemi ile Y kromozomu mikrolelesyonu araştırıldı.

Bulgular: 675 hastanın 75'inde sitogenetik ve 21'inde moleküler, 2'sinde hem sitogenetik hem moleküler düzeyde anomali belirlendi. Anomalili karyotipe sahip hastalarda sayısal ve yapısal (resiprokal ve robertsonian tip translokasyon, inversiyon, ring kromozom gibi) anomaliler saptandı. Y mikrolelesyon belirlenen hastaların 2'sinde AZFa, 1 hastada AZFb, 13 hastada AZFc/d (c+ proksimal c), 6 hastada AZFb/c/d, 1 hastada AZFc/d ve kısmi AZFa bölgelerinde mikrolelesyon saptandı.

Sonuç: Çalışmamız kromozom anomalilerinin ve Y kromozomu mikrolelesyonunun erkek infertilitesinin önemli bir nedeni olduğunu ve bu nedenle infertil hastalarda, kromozom analizi ve Y kromozomu mikrolelesyon testlerinin yapılmasının, erkek kaynaklı infertilitenin açıklanmasında gerekliliğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Erkek infertilitesi, kromozomal anomali, Y kromozom mikrolelesyonu.

Karaer D, Şahinoğlu B, Gürler Aİ, Karaer K. İnfertil erkek hastalarda karyotip analizi ve Y kromozom mikrolelesyon analiz sonuçları. Pam Tıp Derg 2021;14:620-625.

Abstract

Purpose: Infertility is a problem seen in 15% of couples. Genetic causes are responsible for the etiology of 30% of those diagnosed with male infertility due to oligozoospermia and azoospermia. In this retrospective study, it was aimed to determine both the chromosomal structure and the microdeletion of the azoospermic factor (AZF) region on the Y chromosome before the application of assisted reproductive techniques in infertile men admitted to our center.

Materials and methods: 675 patients who applied to our laboratory for routine analyzes were studied. Chromosome analysis from peripheral blood was performed from these patients with conventional cytogenetic method and Y chromosome microdeletion was investigated by fragment analysis method using Y chromosome microdeletion detection kit.

Results: Of 675 patients, 75 had cytogenetic anomalies, 21 had molecular anomalies, and 2 had both cytogenetic and molecular anomalies. Numerical and structural anomalies (such as reciprocal and robertsonian type translocation, inversion, ring chromosome) were detected in patients with anomaly karyotype. Microdeletion was detected in AZFa in 2 patients, AZFb in 1 patient, AZFc/d (c+ proximal c) in 13 patients, AZFb/c/d in 6 patients, and AZFc/d+ partial AZFa in 1 patient.

Conclusion: Our study shows that chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletion are important causes of male infertility, and therefore, chromosome analysis and Y chromosome microdeletion tests are necessary to explain male infertility in infertile patients.

Key words: Male infertility, chromosomal abnormality, Y chromosome microdeletion.

Karaer D, Sahinoğlu B, Gurler AI, Karaer K. Karyotype analysis and Y chromosome microdeletion analysis results in infertile male patients. Pam Med J 2021;14:620-625.

Derya Karaer, Dr. Öğr. Üye. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: kan_derya@yahoo.com (https://orcid.org/0000-0002-1874-0109) (Sorumlu Yazar)

Bahtiyar Şahinoğlu, Uzm. Dr. Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genetik Hastalıklar Tanı Merkez, Gaziantep, Türkiye, e-posta: mem_baxtiyar@yahoo.com (https://orcid.org/0000-0002-2208-540X)

Abdullah İhsan Gürler, Uzm. Dr. Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi, Gaziantep, Türkiye, e-posta: aihsangurler@hotmail.com (https://orcid.org/0000-0002-9034-715X)

Kadri Karaer, Doç. Dr. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: kadrikaraer@gmail.com (https://orcid.org/0000-0002-8877-147X)

Giriş

İnfertilite çiftlerin yaklaşık %15'ini ilgilendiren bir problemdir ve bunların içinde de %50'den fazlası erkek kaynaklı olarak değerlendirilmektedir [1, 2]. Erkek infertil hastaların yaklaşık %40-50'sinde azoospermi ve oligozoospermi görülmektedir [1]. İnfertilite obstrüktif ya da non-obstrüktif nedenlere bağlı olabileceği gibi bazı olgularda da etiyolojisi bilinmemektedir [3]. Obstrüktif infertilite, konjenital ya da sonradan kazanılmış (postenfeksiyöz/posttravmatik) olabilir. Bunlar endokrin hastalıklar, enfeksiyonlar, sperm kanallarının tıkanıklığı, anti-sperm antikolar, gonadotoksinler, varikosel, ejakulasyonda fonksiyon bozukluğu gibi nedenler olabilmekte ve erkek infertilitesinin %7,4'ünden sorumlu tutulmaktadır [2, 3]. Moleküler ve sitogenetik anomaliler ise non-obstrüktif nedenler olarak sınıflandırılır [4]. Azoospermi ve oligozoospermi kökenli erkek infertilitesi tanısı alan olguların %30'unda genetik anomaliler tespit edilmektedir [5]. Klinefelter sendromu (47,XXY) infertil erkeklerin %3'ünde sorumlu tutulur. 47,XXY kromozom anomalisi 1/600 erkek yenidoğanda görülen, en sık rastlanan cinsiyet kromozom anöploidisidir [4, 6]. Klinefelter sendromu en yaygın (%14) azoospermi nedenidir bazen şiddetli oligozoospermide de görülebilir [3, 6]. Yapısal anomalilerden olan dengeli resiprokal otozomal translokasyonlar ve robertsonian tranlokasyonlar, spermatogeneziste oluşturabilecekleri hasarlardan dolayı infertiliteyle ilişkilendirilmektedirler [3]. Akrosentrik kromozomlar (13-15, 21 ve 22. kromozom) arasında gelişen robertsonian translokasyonlardan, infertilite ile en sık görüleni 13. ile 14. kromozomlar arasında olan translokasyonlardır [3].

İnfertilite ile ilişkili sitogenetik anomalilerin yanı sıra, Y kromozomunun uzun kolu üzerindeki spermatogenezisten sorumlu genlerin bulunduğu bölgedeki moleküler olarak tespit edilebilen delesyonlar da önemlidir [1, 2]. "Azoospermik faktör lokusu" (AZF lokusu) olarak adlandırılan bu bölge, infertil erkeklerde Y kromozomunun uzun kolunda delesyon görülmesi ile ilk kez 1976 yılında Tiepolo ve Zuffardi tarafından tanımlanmıştır [7]. Sonraki çalışmalar, AZF bölgesinin, erkek germ hücrelerinin farklılaşmasında ve proliferasyonunda önemli rol oynayan genlerin

kodlandığı bölge olduğunu göstermiştir [8]. AZF bölgesi spermatogenetik hatalarla ilişkili dört fonksiyonel bölgeyi; AZFa (proksimal), AZFb (orta), AZFc (distal) ve AZFd (proksimal c olarak da adlandırılır) içermektedir [9, 10]. AZF lokusu 5 milyon baz çiftinden oluşan ve Yq11.23'ün 5. ve 6. intervaline lokalize olan bir bölgedir [2, 11]. Moleküler genetik çalışmalar idiopatik non-obstrüktif azoospermili ve oligozoospermili erkeklerde AZF lokusundaki bölgelerde %5-20 oranında mikrodelesyon olduğunu göstermektedir [3]. Tüm Y delesyonlu olgularda AZFc (%80), AZFa (%0,5-4), AZFb (%1-5) ve AZFbc (%1-3) delesyonu tespit edilir. AZFabc delesyonu tespit edilen vakaların ise sıklıkla anormal bir karyotiple ilişkili olduğu bildirilmiştir [12]. AZFd delesyonları ise hafif oligozoospermi oluşumu ya da normal sperm sayısına rağmen anormal sperm morfolojisi ile ortaya çıkabilmektedir [13].

İnfertil olgularda Y kromozom mikrodelesyonlarının oranı %1 ve %55 arasında bildirilmektedir [10, 14]. Normal erkek popülasyonunda ise bu oran %0,7-%1 arasındadır [15].

Bu çalışmamızda, polikliniğimize, infertilite nedeniyle başvuran 675 erkek hastanın konvensiyonel sitogenetik ve moleküler genetik tekniklerle elde edilen sonuçları sunulmakta ve ilgili literatürler ışığında tartışılmaktadır.

Gereç ve yöntem

1-Sitogenetik yöntem ve analiz

Kromozom analizi için heparinli tüplere alınan periferik venöz kan örneği fitohemaglutininli (PHA) RPMI- 1640 besiyeri içerisine ekildi ve 37°C de 72 saat kültüre edildi. Çalışmadan 45 dakika önce kolsemid eklendi. Kültüre edilmiş kan hücreleri hipotonik solüsyonu ile lizis ve Carnoy fiksatif ile de fiks edildi. Hücre süspansiyonu lamalar üzerine yayıldı ve eskitme işlemi uygulandı. Elde edilen kromozomlar GTG bantlama sonrası en az 20'şer metafaz plağı olmak üzere analiz edildi.

2-Moleküler yöntem ve analiz

Y kromozomu mikrodelesyonu için etilendiamintetraasetik asit'li (EDTA) tüplere alınan periferik venöz kan örneğinden kandan DNA izolasyon kiti (Promega/ ABD) kullanılarak otomatize sistem (Maxwell RSC Promega/ABD)

ile genomik DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'lar için spektrofotometrik ölçüm yapıldı (Nano-drop/ ABD). Çalışma için 10-50 ng/µl DNA kullanıldı.

Y kromozomu mikrolezyonlarının belirlenmesinde "GML Y Chromosome Microdeletion Detection Kit" (Life Technologies/ ABD) kullanıldı. Kit toplam 14 STS bölgesine ait marker içermektedir. Bunlardan 12'si AZF (AZFa, b, c ve d) de görülen en yaygın delesyon bölgelerinin belirlenmesi için dizayn edilmiş ve erkek infertilitesi ile ilişkili olduğu bilinen önceden haritalanmış STS bölgelerini (sequence-tagged site) içermektedir (AZFa[SY84(DYS273), SY86(DYS148), AZFa(Prox2), AZFb[SY127(DYS218), SY133(DYS223), SY134(DYS224), RBMY],AZFd(proximalAZFc) [SY152(DYS236), SY153], AZFc[SY254(DAZ), SY255(DAZ), SY157(DYS240)). Diğer iki bölgeden biri SY14(SRY) diğeri ise internal kontrol olarak AMXY(Amelogenin) bölgesidir.

Y kromozom mikrolezyon kiti içindeki protokole göre her bir örnek için PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) karışımı hazırlandı. Uygun PCR programı ile polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirildi (PCR system 9600 Thermal Cyclers / ABD). Her çalışma için ayrıca bir pozitif kontrol PCR'ı (14 STS bölgesinde delesyon olmadığı bilinen erkek DNA'sı ile yapılmış PCR) ve negatif kontrol PCR'ı (kadın DNA'sı ile yapılan) kullanıldı. Elde edilen PCR ürünleri pozitif ve negatif kontrol PCR'ı ile "ABI Genetik Analiz Sistemi-3100" (Applied Biosystems/ ABD)'e yüklenerek kapiller elektroforez yöntemiyle fragman analizi yapıldı.

Bulgular

675 infertil erkek hastanın konvansiyonel sitogenetik ve moleküler analiz sonucunda

toplam 98 hastada (%14,52) anomali belirlenirken, 577 hasta (%85,48) normal bulundu (Tablo 1). Anomali belirlenen hastaların 77'sinde (75+2) kromozomal anomali, 23'ünde (21+2) Y mikroledezyon belirlendi. Anomali belirlenen bu hastaların 2'si hem kromozomal anomaliye hem de Y mikroledezyona sahipti. Hastalarda belirlenen anomaliler ve hasta sayıları Tablo 2 ve 3'de özetlenmiştir.

Tartışma

Erkek kaynaklı infertilitede, kromozomal ve moleküler genetik nedenlerin rolü birçok çalışmada açıkça gösterilmektedir. İnfertil erkeklerde, kromozomal anomali oranı %2,2 ile %14,3 (ortalama %7,1) arasında değişmektedir [2, 3]. Van Assche ve ark.'nın [16] azospermik erkeklerde yaptığı çalışmada kromozomal anomali oranı (%13,7-15,4), oligozoospermik erkeklere (%1,7-4,6) oranla daha yüksek bulunmuştur. Vicdan ve ark.'nın [5] çalışmalarında, çalışılan 208 infertil erkeğin 7'sinde (%3,4) kromozomal anomali belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda, %11,40 oranında belirlenen kromozomal anomali literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir [3, 5, 14, 17, 18].

İnfertil erkeklerdeki kromozomal anomaliler sıklıkla, cinsiyet kromozom anomalileri, robertsonian translokasyonlar, resiprokal translokasyonlar, inversiyonlar (perisentrik ve parasentrik) ve markır kromozomlardır [2, 5]. İnfertil erkeklerin %3'ünde görülen Klinefelter sendromu (47,XXY) en sık rastlanan cinsiyet kromozom anöploidisidir [4, 6]. Klinefelter sendromu en yaygın (%14) azospermik nedendir bazen şiddetli oligozoospermide de görülebilir [3, 6]. Çalışmamızda 77 hastada kromozom anomalisi saptanmıştır. Bunlardan 48 hastada 47,XXY genotipi bulunmuştur ve %62,3 oranıyla

Tablo 1. İnfertil hastalarda belirlenen anomalilerin sayı ve yüzdeleri

Sonuçlar	Hasta Sayısı (%)
Genetik düzensizliği olan toplam olgu	98 (14,52) **75+2 anomalili karyotip **21+2 mikroledezyon
Genetik düzensizliği olmayan toplam olgu	577 (85,48)
Toplam olgu	675

*Normal olarak belirlenen 572 hastanın bazılarında perisentrik inversiyon [inv9(p11q13)] belirlenmiştir. İversiyonlar yapısal kromozomal değişim olmakla beraber, 9. kromozoma ait bu bölgeleri içine alan perisentrik inversiyonlar toplumda %1-1,5 arasında klinik ve fenotip olarak normal bireylerde de görüldüğü için, normal kromozomal polimorfizm olarak değerlendirilmiş ve anomali oranlarına eklenmemiştir

** 2 hastada anomalili karyotip+Ymikroledezyon birlikte belirlenmiştir

Tablo 2. Anomalili karyotipe sahip hastaların sonuçları

Karyotip	Hasta Sayısı
47,XXY (Klinefelter Sendromu)	48
mos 47,XXY[42]/46,XX[8]	1
mos 45,X[50]/46,XY[15]	1
mos 46,XY[47]/47,XXY[3]	1
*mos 46,XY[5]/45,X[20]	1
47,XYY	4
46,XY,t(9;14)(q10;q10)	1
46,XY,t(5;7)(q12;p21) de novo	1
46,XY,t(2;7)(q21;q32)	1
46,XY,t(15;22)(p12;q13)	1
46,XY,t(10;21)(q11.2;q22)	1
46,XY,inv(12)(p11.2q13)	1
46,XY,t(3;12)(p21;p13)	1
46,X,t(Y;12)(q12;q22)	1
46,XY,t(1;4)(q12;p16)	1
46,XY,t(1;4)(q12;p16)	1
46,XX(SRY+)	4
46,X,t(Y;1)(p36;q12)	1
**46,X,der(Y)	1
45,XY,rob(13;15)(q10;q10)	1
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)	2
45,X,inv(12)(p11.2q13)[15]/46,XY,inv(12)(p11.2q13)[15]	1
45,X[8]/46,X,r(Y)[12].ish subtel(X;Y)(XYQ+,XYP+;XYQ-,XYP-) (Miks gonadal disgenezi)	1
Toplam	77

*mos 46, XY[5]/45, X[20] hastada aynı zamanda Sy127(Azfb), Sy133(Azfb), Sy134(Azfb), RBMY, Sy157(Azfc), Sy254(Azfc), Sy255(Azfc), Sy152(Azfd), Sy153(Azfd) bölgelerinde delesyon saptanmıştır

**46,X,der(Y) hastada aynı zamanda Sy127(Azfb), Sy133(Azfb), Sy134(Azfb), RBMY, Sy157(Azfc), Sy254(Azfc), Sy255(Azfc), Sy152(Azfd), Sy153(Azfd) bölgelerinde delesyon saptanmıştır

en fazla bulduğumuz kromozomal anomalidir. Geriye kalan 29 hastada ise resiprokal ve robertsonian translokasyon, inversiyon, ring kromozom, cinsiyet anomalileri gibi değişimleri kapsayan anomaliler belirlenmiştir. Dengeli resiprokal otozomal translokasyonlar ve robertsonian translokasyonlar, inversiyonlar, ring kromozomlar spermatogeneziste oluşturabilecekleri hatalardan dolayı infertiliteyle ilişkilendirilmektedirler [3]. Hastalarımızda belirlediğimiz anomalili karyotip sonuçları ve sayıları Tablo 2'de ayrıntılı şekilde verilmiştir. Sonuçlar, kromozomal anomalinin infertil erkeklerde görülme sıklığını ve sitogenetik analizlerin önemini desteklemektedir.

Sitogenetik anomalilerin yanı sıra, Y kromozomunun uzun kolundaki Yq11.23'e lokalize AZF bölgesindeki delesyonlar da oldukça önemlidir. AZF bölgesinin erkek infertilitesi ile ilişkilendirilmesi ilk defa 1976 yılında Tiepolo

ve Zuffardi tarafından yapılmıştır [7]. Bugüne kadar yapılan birçok çalışma ile de Y kromozom mikrodelsyonları ve infertilite arasındaki ilişki desteklenmiştir [3, 5, 19, 20]. Literatürde Y kromozomunda mikrodelsyon oranı %1 ile %55 arasında oldukça geniş bir değişim göstermektedir [1, 3, 6]. Çalışmaya alınan hastaların dahil olma kriterleri, hastaların klinik tanımlanmaları bu oranları etkileyebilmektedir. AZF bölgesi delesyonları, erkek infertilitesi olgularının sık görülen nedenlerindedir. Literatürlerden elde edilen sonuçlara göre en fazla delesyon AZFc'de bulunan DAZ (%95) bölgesinde görülmektedir [2, 3].

Bizim çalışmamızda infertil 675 erkek hastada Y kromozom mikrodelsyon oranı %3,40 olarak belirlenmiştir. Delesyon belirlenen toplam 23 hastanın 2'sinde AZFa (%8,7) bölgesinde, 1 hastada AZFb (%4,3), 13 hastada AZFc+d (proksimal AZFc) (%56,6), 6 hastada AZFb+c+d

(%26,1), 1 hastada AZFc+d+kısmi AZFa (%4,3) bölgelerinde mikrolelesyon saptanmıştır (Tablo 3). Hastalarımızda Y kromozom mikrolelesyon

araştırması sonucunda en fazla delesyon gördüğümüz bölge DAZ bölgesinde içeren AZFc bölgesidir.

Tablo 3. İnfertil hastaların Y kromozomu mikrolelesyon testi sonuçları

Delesyon Bölgeleri				Hasta Sayısı
AZFa	AZFb	AZFc	AZFd	
AZFa (Prox2), Sy84, Sy86				2 (AZFa)
	Sy127, Sy133, Sy134, RBMY	Sy157, Sy254, Sy255	Sy152, Sy153	6 (AZFb+AZFc+AZFd)
	RBMY	Sy157, Sy254, Sy255	Sy152, Sy153	1 (Kısmi AZFb+AZFc+AZFd)
	Sy127, Sy133, Sy134, RBMY			1 (AZFb)
		Sy157, Sy254, Sy255	Sy152, Sy153	13 (AZFc+AZFd)
Toplam				23

Çeşitli yapısal ya da sayısal kromozomal anomalilerin, Y kromozomu mikrolelesyonlarının, erkek infertilitesinin altta yatan bir nedeni olduğu açıktır. Y delesyonlarının ortaya konulması ayrıca diagnostik, prognostik ve koruyucu hekimlik olarak önemli bir parametredir [21]. Örneğin azospermik erkeklerde saptanabilecek komplet AZFa veya AZFb delesyonu, testiküler sperm elde edilmesi açısından negatif prognostik değer olarak yorumlanmaktadır. AZFd delesyonları ise hafif oligozoospermi ya da normal sperm sayısına rağmen anormal sperm morfolojisine neden olabilmektedir [13].

Sonuç olarak, çalışmamız, infertil erkek hastalara kromozom analizi ve Y kromozom mikrolelesyon testlerinin yapılmasının ve yardımcı üreme tekniklerini seçmeden önce bu testlerin sonuçlarının göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlar tedavi prognozunun belirlenmesi için önemlidir.

Çıkar ilişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

- Peterlin B, Kunej T, Sinkovec J, Gligorievska N, Zorn B. Screening for Y chromosome microdeletions in 226 Slovenian subfertile men. *Hum Reprod* 2002;17:17-24. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.1.17>
- Sargın CF, Berker Karaüzüm S, Manguoğlu E, et al. AZF microdeletions on the Y chromosome of infertile men from Turkey. *Ann Génét* 2004;47:61-68. <https://doi.org/10.1016/j.anngen.2003.09.002>
- Thielemans BF, Spiessens C, D'Hooghe T, Vanderschueren D, Legius E. Genetic abnormalities and male infertility. A comprehensive review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;81:217-225. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(98\)00194-8](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(98)00194-8)
- Alkibay T, Tunç L. Yardımcı üreme tedavilerinde sperm elde etme teknikleri. *Türk Fertilite Dergisi* 2002;10:35-39. Available at: <http://www.turkmedline.net/degilistes.php?journal=135>. Accessed January 20, 2021
- Vicdan A, Vicdan K, Günalp S, et al. Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;117:49-54. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2003.07.006>
- Abdelmoula NB, Amouri A, Portnoi MF, et al. Cytogenetics and fluorescence in situ hybridization assessment of sex-chromosome mosaicism in Klinefelter's syndrome. *Ann Génét* 2004;47:163-175. <https://doi.org/10.1016/j.anngen.2003.08.024>

7. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34:119-124. <https://doi.org/10.1007/BF00278879>
8. Küçükaslan AŞ, Bozok Çetintaş V, Altıntaş R, et al. İnfertil Türk erkeklerinde Y kromozomu mikrolezyonlarının saptanması. *Türk Üroloji Dergisi* 2013;39:170-174. <https://doi.org/10.5152/tud.2013.035>
9. Bor P, Hindkjaer J, Ingerslev HJ, Kolvraa S. Multiplex PCR for screening of microdeletions on the Y chromosome. *J Assist Reprod Genet* 2001;18:291-298. <https://doi.org/10.1023/a:1016618418319>
10. Fox MS, Reijo Pera RA. Male infertility, genetic analysis of the DAZ genes on the human Y chromosome and genetic analysis of DNA repair. *Mol Cell Endocrinol* 2001;184:41-49. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(01\)00646-3](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(01)00646-3)
11. Tunç L, Polat F, Uluoğlu Ö, Bozkırlı İ. Nonobstrüktif azospermik erkeklerde testiküler sperm ekstraksiyonu ile testiküler patoloji sonuçlarına göre sperm elde etme oranları. *Türk Fertilite Dergisi* 2002;10:197-201. Available at: https://jag.journalagent.com/androloji/pdfs/AND_18_65_118_125.pdf. Accessed January 20, 2021
12. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology* 2014;2:5-19. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x>
13. Ceylan GG, Ceylan C, Elyas H. Genetic anomalies in patients with severe oligozoospermia and azospermia in eastern Turkey: a prospective study. *Genet Mol Res* 2009;8:915-922. <https://doi.org/10.4238/vol8-3gmr616>
14. Retief AE, Van Zyl JA, Menkveld R, Fox MF, Kotze GM, Brusnick J. Chromosome studies in 496 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Hum Genet* 1984;66:162-164. <https://doi.org/10.1007/BF00286592>
15. 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;25:559-565. <https://doi.org/10.1007/s10815-008-9272-8>
16. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, et al. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 1996;11:1-24. https://doi.org/10.1093/humrep/11.suppl_4.1
17. Matsuda T, Horii Y, Ogura K, Nonomura M, Okada K, Yoshida O. Chromosomal survey of 1001 subfertile males: incidence and clinical features of male with chromosomal abnormalities. *Hinyokika Kyo* 1992;38:803-809.
18. Pina Neto JM, Carrara RCV, Bisinella R, et al. Somatic cytogenetic and azospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. *Braz J Med Biol Res* 2006;39:555-561. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006000400017>
19. Chiang HS, Yeh SD, Wu CC, Huang BC, Tsai HJ, Fang CL. Clinical and pathological correlation of the microdeletion of Y chromosome for the 30 patients with azospermia and severe oligoasthenospermia. *Asian J Androl* 2004;6:369-375. Available at: <http://www.asiaandro.com/archive/1008-682X/6/369.htm>. Accessed January 20, 2021
20. Dohle GR, Halley DJJ, Van Hemel JO, et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azospermia. *Hum Reprod* 2002;17:13-16. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.1.13>
21. Krausz C, Murci Quintana L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? *Hum Reprod* 2000;15:1431-1434. <https://doi.org/10.1093/humrep/15.7.1431>

Etik kurul onayı: Çalışma 2016-2019 yıllarını kapsayan retrospektif bir çalışma olduğu için etik kurul onayı alınmamıştır.

Yazarların makaleye olan katkıları

D.K. ve B.Ş. çalışmanın ana fikrini ve hipotezini kurgulamışlardır. A.İ.G. teoriyi geliştirmiş, gereç ve yöntem bölümünü düzenlemiştir. Sonuçlar kısmındaki verilerin değerlendirmesini D.K. ve B.Ş. yapmış. Makalenin tartışma bölümü D.K. tarafından yazılmış, K.K. gözden geçirip gerekli düzeltmeleri yapmış ve onaylamıştır. Ayrıca tüm yazarlar çalışmanın tamamını tartışmış ve son halini onaylamıştır.