

# ICSI Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Azoospermik ve Oligospermik Hastalardaki Genetik Anomalilerinin Etkisi

## Impact of Genetic Abnormalities on Outcome of Fertilization after ICSI in Azoospermia and Severe Oligozoospermia Patients

Özgür Aldemir<sup>1</sup>, M. Hamza Müslümanoğlu<sup>2</sup>, Cavit Can<sup>3</sup>, Cengiz Bal<sup>4</sup>, Murat Cantürk<sup>5</sup>, Ramazan Emre<sup>5</sup>, Muhsin Özdemir<sup>6</sup>, Hüseyin Aslan<sup>7</sup>, Oğuz Çilingir<sup>6</sup>, Sevilhan Artan<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Hatay

<sup>2</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik AD, İstanbul

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, Eskişehir

<sup>4</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, Eskişehir

<sup>5</sup>İstanbul Adli Tıp Kurumu İstanbul

<sup>6</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Eskişehir

<sup>7</sup>Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Adana

### Özet

Bu çalışmanın amacı; azoospermili ve oligozoospermili erkek hastalarda hem kromozom anomalilerinin hem de Y mikrodelesyonlarının sıklığını ve tiplerini belirlemek; saptanan genetik anomaliler ile infertil erkeklerdeki klinik veriler arasındaki ilişkiyi incelenmiştir. Genetik anomali saptanan azoospermik ve oligozoospermik erkeklerde, genetik anomali varlığının intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sonrası fertilizasyon başarısı oranları üzerine etkisini araştırmaktır. Bu çalışmada 97 infertil ve 10 fertil erkek incelenmiştir. Bu çalışmada 97 infertil erkek hasta arasında azoospermik olan 73 hastanın 2'sinde Y kromozom delesyonu saptanmıştır. Azoospermik 73 hastanın 13'ünde ve oligozoospermili 24 hastanın ise 3'ünde toplam 16 infertil hastada kromozom anomalisi saptanmıştır. Genetik anomalili hastaların ICSI sonrası gebelik sonuçları ile non-genetik hastaların ICSI sonrası gebelik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Azoospermi, oligozoospermi, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, kromozom anomalisi, Y kromozom mikrodelesyonu

### Abstract

We determined the incidence and types of Y microdeletion and chromosomal abnormalities in azoospermia and oligozoospermia male patients; correlation between clinical data of infertile patients and genetic abnormalities.

We investigated the impact of genetic abnormalities which present in azoospermia and oligozoospermia male patients' fertilisation success rate after intracytoplasmic sperm injection (ICSI). We performed 97 infertile and 10 fertile males in this study. Among the studied of 97 infertile male patients, 73 were azoospermic and 24 were

### Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Özgür ALDEMİR  
Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tayfur Ata Sokmen  
Kampusu Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,  
Antakya/HATAY  
E-mail: aldemir.ozgur@gmail.com

oligozoospermic. A total of 16 patients detected with Y chromosome microdeletions; 13 out of 73 azoospermic patients and 3 out of 24 oligozoospermic patients detected with chromosomal abnormalities. We investigated the incidence of Y chromosome microdeletions and chromosomal abnormalities and total genetic abnormalities in those patients. Among patients who had pregnancy after ICSI, there was not any statistical correlation between patients those has

**genetic abnormalities and pregnancy. We detected neither Y chromosome deletions nor chromosomal abnormalities in the fertile control group of 10 people.**

**Key Words:** Azoospermi, oligozoospermi, intracytoplasmic sperm injection, chromosome abnormality, Y chromosome microdeletion

**D**ünya sağlık örgütünün tanımına göre infertilite; eşlerin bir yıldan fazla sürede düzenli ilişkiye girmesine rağmen gebeliğin oluşmamasıdır. İnfertilite genetiği alanında son 10-15 yılda yapılan çalışmalar tanıya ve tedaviye yardımcı olmuş, etyolojiyi aydınlatmaya yönelik önemli bilgilere ulaşmamızı sağlamıştır (1, 2). Erkek faktöre bağlı infertil vakalarda, özellikle non-obstruktif azoospermik erkeklerde azoospermiye yol açan Y mikrodelesyon ilk olarak Tiepolo ve Zuffardi tarafından infertil hastalarda tanımlanmıştır (4). Erkek infertilitesinin etyolojisinden birçok sebep vardır, bunlardan başlıcaları; infeksiyon, endokrin hastalıklar, varikosel, travma, spermatik kanal obstruksiyonu, sistemik hastalıklar, testis tümörü v.b. Literatüre göre erkek infertilitesinde genetik sebepler içinde en sık rastlanan kromozom anomalileri %2 ile %10 arasında bir sıklıkla rastlanır. Y mikrodelesyon sıklığı ise farklı çalışmalarda farklı oranlarda bildirilmiştir. Y mikrodelesyonu ilgili AZF lokusunun (AZFa, b, c) yeri ve büyüklüğüne göre normozoospermiden ağır azoospermiye kadar farklı durumlara yol açar. Azoospermi ve/veya oligospermi bulgusu olan hastalarda genetik etyolojiyi aydınlatmaya yönelik 3 durum araştırılmalıdır.

1. Kongenital vas deferens yokluğuyla giden kistik fibrozis gen mutasyonu
2. Testikuler disfonksiyona neden olan kromozomal anomalilerin araştırılması
3. İzole spermatogenetik hasarla ilişkili Y mikrodelesyonları

Y mikrodelesyonu erkek infertilitesinde Klinefelter sendromundan sonra ikinci en önemli nedendir. Tek gen hastalıkları olarak bilinen grup içinde kistik fibrozis de dahil olmak üzere 50'ye yakın hastalık erkek infertilitesiyle ilişkilendirilmiştir (1, 2). Mitokondriyal gen mutasyonları, mitokondrinin kendi nükleer genomundaki genlere ait mutasyonlar enerji üretimini azaltarak spermin motilitesini azaldığı ve infertiliteye yol açtığı düşünülmektedir (16).

Y mikrodelesyonun lokustaki yerine göre spermatogenez üzerine farklı etkiler oluşturur. Örneğin AZFc delesyonu olan çoğu hastada ejakulatta sperm bulunur; ancak sperm sayısı ciddi oranda azalmıştır. AZFc delesyonu, şiddetli

oligospermik ve azoospermik erkeklerde %2-10 oranında görülmektedir. AZFb delesyonlarında testis dokudan alınan biopsilerde sperm bulunma şansı çok düşüktür (12). Günümüzde AZFc delesyonu olan hastalarda elde edilen spermlerin dondurularak korunması işleminin önemi anlaşılmıştır. AZFc delesyonu olan oligozoospermik hastalarda sperm sayısının zamanla daha azaldığı görüşü önem kazanmıştır. Bu açıdan AZFc delesyonu bulunan hastalarda spermlerin dondurularak saklanması ileride yaşanacak infertilite problemine çözüm sağlayacaktır (15, 16).

Non-obstruktif azoospermi hastalarında TESE (testikuler sperm ekstraksiyonu) öncesinde testislerde sperm bulma oranını etkilediği düşünülen parametreler bulunmuş ve bu parametreler ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu açıdan en çok rutinde uygulanan çalışmalar testis volumü, FSH düzeyi, daha önce yapılan testis biopsi sonucu ve kromozomal anomalilerinin bulunup bulunmaması üzerinedir (17). TESE, azoospermili hastalarda testisten sperm elde etmek için uygulanan üremeye yardımcı tedavi metodudur. Daha önce TESE işlemi testisin sadece bir odağından biyopsi alınarak sperm bulma şansını arttığı görülmüştür. Non-obstruktif azoospermili hastalarda TESE sonrası sperm bulma oranı ortalama %50 olup ICSI sonrası gebelik başarı oranları %35 ile %52 arasında değişmektedir. ICSI (Intrasitoplazmik sperm injeksiyonu), başarılı bir TESE işlemi sonrasında elde edilen canlı spermin mikroenjeksiyonla oosit sitoplazmasına enjekte edilmesi işlemine denir. İn vitro ortamda yapılan bu işlemler sonrasında elde edilen embriyo, kalitesi iyi ise uterusu transfer edilir (11).

## Materyal-metod

Bu çalışmada Eskisehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik, ESOĞÜ Üroloji ve ESOĞÜ Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniği tarafından 2007 ile 2011 yılları arasında yaptığı ortak yürütülen bir çalışmadır. 97 erkek infertil hastada, kromozom analizi ve Y mikrodelesyon analizi 10 STS primeri kullanarak bakılmış. ESOĞU Tıp Fakültesi Üreme Sağlığı merkezi tarafından TESE sonrası ICSI yapılan hastalarda gebelik başarı sonuçları değerlendirilmiştir. PCR analizi öncesinde Qiagen QIAamp blood kit genomik DNA örnekleri kullanılarak 10 farklı tüpte her bir tüpte 0.2mL STS spesifik PCR primer miksi konulmuştur. Her tüpe 15µl olacak şekilde; 2µl hasta DNA'sı, 0.15µl Taq polimeraz, 10 µl PCR miks A, 10 µl PCR miks B. PCR analizi 30 siklus olacak şekilde, sonra PCR ürünleri %2' lik agaroz jelde yürütülmüştür. Amplifiye olan DNA örnekleri 505bp internal

kontrolle karşılaştırılmıştır. Amplifiye olan DNA örnekleri jel dökümantasyon sisteminde görüntülenmiştir. STS primerleri sY84, sY85 (AZFa), sY127, sY134 (AZFb), sY157, sY254, sY255, sY152, sY153 (AZFc) kullanılarak Y mikrodelesyon analizi gerçekleştirilmiştir.

İstatistik analiz için SPSS versiyon 16.0 kullanılmıştır. Mann-Whitney U-test ve ki-kare testleri uygulanmıştır.  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Sayısal kromozomal anomalisi olan 16 hastanın, 13'ünde 47,XXY, bir hastada 46,XY,14 ps+, bir hastada 45,XY,t(13;14) ve bir hastada 45,XY,t(Y;12). Tüm Y mikrodelesyonu olan hastalarda AZFc delesyonu saptandı. Hiçbir hastada AZFa, AZFb delesyonu saptanmadı. Sayısal kromozomal anomalisi olan 16 hastadan, 3 'ünde klinik gebelikle sonuçlanmıştır ve bir hastada kimyasal gebelik oluşmuştur. Y mikrodelesyonu saptanan 5 hastada, ikisinde Grade 3 embyro gelişimi (embryo transferine uygun değil). Diğer üç hastada canlı sperm bulunamamış ve ICSI tedavisine başlanmamıştır (Tablo 1 ve 2).

## Tartışma

Tiepolo and Zuffardi ve ark. tarafından 2542 infertil erkek hastanın karyotip analizi yapılmıştır ve 176 hastada (%7) seks kromozom anomalisi saptanmıştır, 40 hastada (1,6%) otozomal kromozom anomalisi saptanmıştır (4). Bourrouillou ve ark. 952 hastanın karyotip analizini sonucunda 65 hastada seks kromozom anomalisi ve 33(3.3%)'ünde otozomal kromozom anomalisi bulunmuştur (3).

Ceylan ve ark. 90 infertil erkekte yaptığı çalışmada 11(%2) hasta AZF delesyonu bulmuşlardır, bu delesyonlardan 4'ü AZFb delesyonu, 6'sı AZFc delesyonu ve biri ise AZFa ve c delesyonu olarak tanımlanmıştır. Türk popülasyonunda yapmış olduğumuz bu çalışmada 73 hastadan 2'sinde 27 oligozoospermik vakadan 3'ünde AZF delesyonu bulunmuştur. Çalışmamızda ise azoospermik hasta grubunda 2(%2.6) tam AZFc delesyonu saptanmıştır (6).

Foresta ve ark.'nın çalışmasında azoospermik grupta 16 hastadan 6'sında AZF delesyonu saptanmış, oligozoospermik grupta 22 hastanın 5'inde AZF delesyonu saptanmıştır (7). Bizim

çalışmamızda ise 97 azoospermik ve oligozoospermik erkek hastadan sadece 2 hastada AZFc delesyonu bulunmuştur, toplam Y mikrodelesyon sıklığı %2'dir. Çalışmamızdaki hasta sayısının fazlalığı ve kullanılan STS primerlerinin özgünlüğü nedeniyle Y mikrodelesyon sıklığı, Foresta ve ark.'larının yaptığı çalışmaya göre literatür oranlarına daha yakın bulunmuştur (7).

Martinez ve ark. 'ları 57 azoospermik ve 71 oligozoospermik hastada Y kromozom delesyonu varlığı araştırılmıştır ve 9 STS primeri kullanılarak 3 farklı bölgeye (AZFa, b ve c) bakılmıştır. AZFb ve AZFc delesyonu 9(%7) hastada saptanmıştır. DAZ gen delesyonu 9 hastanın 8'inde bulunmuştur (13).

Österlund ve ark.'nın İsveç popülasyonunda 192 azoospermik ve oligozoospermik erkekte yaptığı çalışmada 13 STS primeri kullanılmış ve 4 hasta AZFb kısmi delesyon ve AZFc tam delesyon saptanmıştır. Bizim çalışmamız Türk popülasyonundaki azoospermik 2 hastada (%2,6) 10 STS primeri kullanılarak AZFc tam delesyonu saptanmıştır. Literatürdeki bazı çalışmalarla bizim sonuçlar arasındaki farklılığın kullanılan STS primerinin sayısı ve bakılan bölge farklılığı olarak açıklayabiliriz (14).

Maiburg ve ark. tarafından 1565 ICSI yapılmış çifte aile öyküsü genetik hastalıklar için pozitif olanların veya infertiliteye neden olan genetik faktörlere sahip olanların ICSI sonrası fertilizasyon sonrası başarı oranları karşılaştırılmıştır. ICSI tedavi sonuçlarıyla obstruktif azoospermik, kromozom aberasyonu olan, Y mikrodelesyonu olan ve aile öyküsü pozitif olan hasta alt grupları karşılaştırılmış ve fakat ICSI tedavisi başarı oranları arasında ne genetik faktörler açısından

**Tablo 1.** Kromozom Anomali ve Y mikrodelesyon olan hastalarında ve olmayan FSH değerlerinin karşılaştırılması

Y mikrodelesyon (+)	5	13,48+5,32	$P < 0.05$ ns*
Y mikrodelesyon (-)	93	17,76+1,62	$P < 0.05$ s
Kromozom anomalisi (+)	16	20,2+1,93	$P < 0.001$
Kromozom anomalisi (-)	82	9,23+1,35	$P < 0.001$

\*Mann Whitney-U test

**Tablo 2.** Azoospermili ve oligozoospermili hastaların tedavi sonrası gebelik sonuçları

	Klinik Gebelik	Biyokimyasal Gebelik	Klinik ve Biyokimyasal Gebelik
Y delesyon olan hastaların ICSI sonuçları	3	1	12
Kromozom anomalisi olan hastaların ICSI sonuçları	3	1	12
Y mikrodelesyon ve kromozom anomalisi olan hastaların sonuçları	22	2	58

aile öyküsü pozitif olanlarda, ne de genetik anomalileri olanlarda anlamlı bir fark bulunmamıştır (11). Bizim çalışmamızda Maiburg ve ark. yaptığı çalışmasıyla benzer olarak ICSI tedavisi başarısı açısından genetik öyküsü olan ve genetik anomalisi olanlarla olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Kihaile ve ark. tarafından 118 Japon azoospermik ve oligozoospermik erkek üzerinde yapılan çalışmada ICSI tedavisi uygulanmıştır, 9 vakada Y mikrolelesyonu bulunmuş, bunlardan 5'i AZFc delesyonuymuş. AZFc delesyonu olan ve ICSI tedavisi uygulanan vakalarda embriyo gelişimi, fertilizasyon ve gebelik oranları karşılaştırıldığında gebelik sonuçlarını olumsuz etkilediğine dair bir sonuç bulunmamıştır, bu vakalarda gebelik başarısı van Golde ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre düşük çıkmamıştır. Y mikrolelesyonu olan hastalarda matür canlı sperm eldesi başarılı bir ICSI tedavisi için yeterli olabileceği öngörülmüştür (8). Çalışmamızda 97 azoospermik ve oligozoospermik ICSI tedavisi uygulanan vakanın fertilizasyon ve gebelik anomalisi olan grupta gebelik oranlarının düşük olduğu saptanmıştır.

Özellikle Y mikrolelesyonu olan vakalarda ICSI sonrası gebelik oranlarının düşüklüğü ve embriyo gelişiminin kötü olduğu (Grade 3) saptanmıştır (8).

van Assche ve ark. tarafından 10.728 infertil erkekte geniş hasta serisinde yapılan çalışmada 47,XXY karyotipi %3,5 ve otozomal kromozom anomalisi %1.3 oranında saptanmıştır (18).

Vicdan ve ark.'nın 208 infertil erkekte yaptığı çalışmada 119 azoospermik hastanın 17 (%14.3)'sinde Y kromozom mikrolelesyonu, 89 oligozoospermik hastadan 2(%2.2)'sinde toplamda 19 hastada (%9.1) Y kromozom delesyonu bulunmuştur (10). van Golde ve ark.'nın oligozoospermik 300 erkek hastada yaptığı Y mikrolelesyonu çalışmasında 8 (%2.7) hastada delesyon saptanmıştır ve delesyonların tamamı AZFc bölgesine ait delesyonlardır. AZFa ve b delesyonları saptanmamıştır (20).

Çalışmamız ile literatürdeki diğer çalışmaların özeti verilmiş olup, kromozom anomalisi ve Y kromozom delesyonu açısından farklı çalışmalarda farklı oranlar dikkati çekmektedir (Tablo 3). İki vakaya ICSI tedavisi uygulanmış, fakat gebelik sağlanamamıştır. Ayrıca kromozom anomalisi olan

**Table 3.** Literatür özeti

Referenslar	Toplam Sayı	Tanı	Y mikrolelesyon(+)	Toplam
Tiepolo-Zuffardi ve ark.(3)	1170	Azoo 113 Oligo 960	6 (%5.3)	12 (%1)
Mallidis ve ark.(4)	1543		92 (%6)	92 (%6)
Simoni ve ark.(5)	168	Azoo 74 Oligo 94	2 (%2) 3 (%3)	5 (%3)
Silber ve ark.(9)	81	Azoo 51 Oligo 30	10 (%19)	14 (%17)
Van Golde ve ark.(11)	300	Oligo 300	8 (%2.7)	8 (%2.7)
Vicdan ve ark.(10)	208	Azoo 119 Oligo 89	17 (%14) 2 (%2)	19 (%9)
Ceylan ve ark.(14)	90	Azoo 30 Oligo 30 Normo 30	5 (%16) 4 (%13) 2 (%7)	11 (%12)
Foresta ve ark.(16)	38	Azoo 16 Oligo 22	6(%37.5) 5(%22.5)	11 (%29)
Pryor ve ark.(17)	98	Azoo 26 Oligo 72	1 (%1) 1 (%1)	2 (%2)
Kleiman ve ark.(21)	133	Azoo 139 Oligo 28	7 (%5.4) 1 (%3.6)	8 (%6)
Martinez ve ark. 18)	128	Azoo 57 Oligo 71	5 (% 8.8) 4 (%5.6)	9 (%7)
Chiang ve ark.(19)	220	Azoo 134 Oligo 86	12 (%9) 10 (%11)	22 (%10)
Österlund ve ark.(20)	192	Azoo 139 Oligo 53	4 (%3)	4 (%2)
Kremer ve ark.(22)	130	Azoo 19 Oligo 111	- 7 (%6)	7 (%5.4)
This study	100	Azoo 73 Oligo 27	2 (%2) 3 (%12)	5 (%5)

hastaların ICSI sonrası gebelik sonuçlarında üç klinik gebelik ve bir biyokimyasal gebelik sağlanmıştır. Genetik anomalisi olan hastalarda ICSI sonrası gebelik oranları düşük bulunmuştur, fakat genetik anomalisi olan ve olmayan hastaların ICSI sonrası gebelik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu alanda daha geniş hasta popülasyonunda ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır, gelecekte bu konuda olan çok merkezli ve geniş vaka serilerinde yapılacak çalışmalar, genetik anomalisi olan bireylerinde gebelik başarısı artırılmaya yönelik uygulamaların fayda sağlayacağını düşünmekteyiz.

### Kaynaklar

- Irvine D.S. Epidemiology and aetiology of male infertility. *Hum. Reprod.* 1998;13:33-44.
- World Health Organization. World Health Organization, Department of Reproductive health and research. 5<sup>th</sup> edition. Geneva. WHO press. 2010:13-58.
- Bourrouilou G, Dastugue N, Colombies P. (1985) Chromosome studies in 952 infertile males with a sperm count below 10 million/ml. *Hum. Genet.* 71:366-67.
- 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.
- Chiang H, Wei H, Chen Y. Genetic screening for patients with azoospermia and severe oligoasthenospermia. *Int. J. Androl.* 2003; 23:20-25.
- Ceylan C.C, Ceylan G, Elyas H. Genetic anomalies in patients with severe oligozoospermia and azoospermia in eastern Turkey: a prospective study. *Genetic Molecular Research.* 2009; 8(3):915-922.
- Foresta C, Moro E, Ferlin A. Prognostic value of Y deletion analysis. *Human Reproduction* 2001; 16, 8:1543-47.
- Kihaile P.E, Kisanga R.E, Aoki K, ve ark. Embryo outcome in Y chromosome microdeletion infertile males after ICSI. *Mol. Reproduction and Development.* 2004; 68:176-181.
- Krausz C, Quintana-Murci L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? *Hum Reprod.* 2000; 15(7):1431-4.
- Koşar PA, Özçelik N, Koşar A. Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and oligozoospermia. *Journal Assisted Reprod. Genet.* 2010; 27:17-21.
- Maiburg M, Alizadeh B, Kastrop P, ve ark. Does the genetic and familial background of males undertaking ICSI affect the outcome? *Journal Assisted Reprod. Genet.* 2009; 26:293-303.
- Mallides C, McLachlan R, Baker H.W.G, ve ark. Y chromosome deletions and male infertility: The current status answered questions. *Communication medis for Education.* 1998; 205-213.
- Martinez M.C, Bernabe M.J, Gomez E, ve ark. Screening for AZF deletion in large series of severely impaired spermatogenesis patients. *J Androl.* 2000; 21:651-655.
- Österlund C, Segerteen E, Arver S, Pousette A. Low number of Y chromosome deletions in infertile men at a Swedish andrology centre. 2000; 23:225-229.
- Kremer J.A.M, Tuerlings J.H.A.M, Muelman E.J.H, ve ark. Microdeletion of the Y chromosome and intracytoplasmic sperm injection: from gene to clinic. *Hum. Reprod.* 1997; 12:687-691.
- Poongathia J, Gopenath T.S, Mononayaki S. Genetics of human infertility. *Singapore Med J.* 2009; 50(4):334.
- Silber SJ, Alagappan R, Brown LG, ve ark. Y deletions in azoospermic and severely oligospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. *Hum Reprod.* 1998;13:3332-3337.
- van Assche E, Bodmelk M, Tournay H, ve ark. Cytogenetics of infertile men. *Hum. Reprod.* 1996; 4:1-24.
- Vicdan A, Vicdan K, Günalp S, ve ark. Genetic aspects of human male infertility: the frequency of chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in severe male factor infertility. *European Journal of Obstetric&Gynecology and Reproductive biology.* 2004;117:49-54.
- van Golde RJ, Wetzels AM, de Graaf R, ve ark. Decreased fertilisation rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in azoospermia factor c region of Y chromosome. *Hum. Reprod.* 2001;16: 289-92.