

MIKRODELECIJE Y-KROMOSOMA U MUŠKARACA SMANJENE REPRODUKTIVNE SPOSOBNOSTI

Buretić-Tomljanović, Alena; Vlastelić, Ivan; Randić, Ljiljana; Kapović, Miljenko; Radojčić Badovinac, Anđelka

Source / Izvornik: **Medicina, 2004, 42(40), 281 - 285**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:059096>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of
Medicine - FMRI Repository](#)



MIKRODELECije Y-KROMOSOMA U MUŠKARACA SMANJENE REPRODUKTIVNE SPOSOBNOSTI

Y CHROMOSOME MICRODELETIONS IN SUBFERTILE MEN

*Alena Buretić-Tomljanović¹, Ivan Vlastelić², Ljiljana Randić², Miljenko Kapović¹,
Anđelka Radojčić Badovinac^{1,2}*

SAŽETAK

Mikrodelecije AZF-područja Y-kromosoma mogući su genetički čimbenik neplodnosti u muškaraca. Javljaju se u približno 7% muškaraca s idiopatskom neplodnošću. Molekularna analiza mikrodelecija općeprivačena je metoda koja dobiva sve veće značenje s obzirom na usavršavanje metoda potpomognute reprodukcije i prijenos mikrodelecija s očeva na sve sinove. Pacijenti s najvećim rizikom za mikrodelecije Y-kromosoma su oni s azoospermijom ili teškim oblikom oligozoospermije. Studije mikrodelecija Y-kromosoma važne su i za izbor odgovarajućeg načina genetičkog informiranja neplodnih parova.

U radu je analizirano 75 ispitanika.

KLJUČNE RIJEČI: neplodnost muškaraca, mikrodelecije humanog Y-kromosoma

ABSTRACT

Microdeletions of the Y chromosome in the AZF region are a possible genetic factor of male infertility. They are found in about 7% of infertile men. The molecular detection of microdeletions is widely accepted in infertility treatments as there is an advance in methods of assisted reproduction and because microdeletions are transmitted to 100% of male offspring. Patients with the highest risk of microdeletion are those with azoospermia or severe oligozoospermia. The study of microdeletions is very useful in adopting an appropriate strategy in providing genetic counselling to the affected couples.

We preliminary analysed 75 patients in the study.

KEY WORDS: male infertility, microdeletions of human Y chromosome

UVOD

Smanjena sposobnost reprodukcije javlja se u približno 15% bračnih parova.¹⁻³ Smatra se da je za polovicu tih slučajeva odgovoran neki čimbenik gametogeneze u muškaraca. Iako su poznati brojni uzroci smanjene reproduktivne sposobnosti muškaraca, kao npr. varikokela, opstrukcija sjemenovoda, aglutinacija spermija, hormonska neravnoteža ili genetički uzroci, oko 30% infertilnih muškaraca pati od idiopatskog infertiliteta.¹ Smanjena reproduktivna sposobnost muškaraca može se okarakterizirati kao azoospermija (potpun nedostatak spermija), oligozoospermija (smanjen broj spermija),

astenozoospermija (slaba pokretljivost spermija) ili teratozoospermija (abnormalna veličina ili oblik spermija). Genetički uzroci muškog infertiliteta mogu se razmatrati na razini kromosoma ili gena. Poznato je da se u muškaraca smanjene reproduktivne sposobnosti nađu kromosomske aberacije češće negoli u općoj populaciji. Učestalost kromosomskih aberacija najviša je u muškaraca s azoospermijom (do 14%), nešto je niža u onih s oligozoospermijom (5%–11%), dok se u općoj populaciji kreće oko 1%.⁴ Najčešće kromosomske aberacije povezane sa smanjenom reproduktivnom sposobnošću muškaraca jesu numeričke i uključuju spolne kromosome. Radi se o trisomiji XXY ili Klinefelterovu sindromu kod kojega se u kliničkoj slici javlja odsutnost spermatogeneze, hipogonadizam i ginekomastija, ili o različitim oblicima mozaicizma (npr. 45,X/46,XY; 47,XXY/46,XY i drugi) koji u određenim slučajevima mogu biti posljedica nestabilnosti dicentričnog Y-kromosoma i udruženi s različitim stupnjem poremećaja

Ustanova: ¹Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, ²Odjel za planiranje obitelji, Klinika za ginekologiju i porođništvo, Klinički bolnički centar Rijeka

Prispjelo: 2. 6. 2004.

Prihvaćeno: 30. 6. 2004.

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. Alena Buretić-Tomljanović, dipl. ing., Medicinski fakultet u Rijeci, Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Braće Branchetta 22, 51 000 Rijeka. e-mail: alena@medri.hr

spermatogeneze. Strukturne aberacije koje uzrokuju smanjenu plodnost muškaraca, zahvaćaju uglavnom Y-kromosom, a to su delecije del (Yq), prstenasti kromosom r(Y) ili izokromosom i(Yq). Reproduktivnu sposobnost muškaraca mogu umanjiti i Y-autosomske translokacije, druge recipročne translokacije, Robertsonove translokacije ili inverzije. Procjenjuje se da su za približno 10% muškog infertiliteta odgovorne mutacije gena uključenih u odvijanje spermatogeneze. Zasad je poznat određen broj gena na humanom Y-kromosomu, koji su uključeni u određivanje muškog spola i održavanje spermatogeneze. Na kratkom kraku mapiran je čimbenik determinacije testisa (SRY), dok je na dugom kraku određen čitav niz gena uključenih u složen proces spermatogeneze. Svi su ti geni mapirani u području Yq11 (OMIM). Dio njih naveden je u tablici 1. Mnogi od tih gena nalaze se u Yq11 području u multiprim kopijama, od kojih nisu sve funkcionalne. Područje Yq11 nazvano je i čimbenikom azoospermije (engl. – azoospermia factor, AZF) i podijeljeno je na 4 područja: AZFa, AZFb, AZFc i AZFd, od kojih se prva tri smatraju najvažnijima za odvijanje procesa spermatogeneze. AZFc područje nalazi se najviše distalno u eukromatinskom dijelu q kraka na granici prema heterokromatinskom bloku Y-kromosoma. Glavni geni kandidati za odvijanje spermatogeneze jesu geni DFFRY/USP9Y (AZFa), RBMY (AZFb) i DAZ (AZFc).¹

MIKRODELECije Y-KROMOSOMA

Rezultati brojnih radova upućuju na povezanost mikrodelecija unutar AZF-područja sa smanjenom reproduktivnom sposobnošću muškaraca.⁵ Geni u AZF-području Y-kromosoma vrlo su vjerojatno esencijalni za odvijanje spermatogeneze. Karakterizira ih specifična aktivnost u testisima, iako neki imaju i svoje gene homologe na autosomima. Osnovne funkcije AZF-gena nisu poznate, ali je činjenica da mikrodelecije Y-kromosoma nisu utvrđene u plodnih muškaraca, što potvrđuje njihovu važnost za spermatogenezu. Za detekciju mikrodelecija ispituju se brojni STS-markeri (engl. – sequence-tagged sites) koji su mapirani unutar gena AZF-područja i izvan njih. Učestalost mikrodelecija u različitim radovima znatno varira – od 1% do čak 55,5%. S obzirom na velike razlike u učestalosti mikrodelecija u studijama, vrlo je vjerojatno da na učestalost mikrodelecija utječu i neki okolišni čimbenici te da postoje međupopulacijske razlike. Mikrodelecije su u infertilnih muškaraca najučestalije unutar AZFc-područja. Proksimalne mikrodelecije (AZFa i AZFb) obično prate teži defekti spermatogeneze kao npr. Sindrom samo Sertolijevih stanica (engl. – Sertoly-cell-only syndrome – SCOS) gdje u zavijenim kanalicima nema stanica zametnog epitela. Distalne mikrodelecije (AZFc) mogu biti udružene s oligozoospermi-

jom koja s vremenom može prijeći i u azoospermiju. Korelacija opsega mikrodelecija i fenotipa nije potpuno jasna. S pojavom SCOS-a mogu se povezati mikrodelecije gena USP9Y/DFFRY i DBY, dok se mikrodelecije AZFb-područja nađu i u slučajevima azoospermije, oligozoospermije i normozoospermije.¹ Analizom broja mikrodelecija prema kliničkim dijagnozama ispitanika utvrđeno je da se čak 66% mikrodelecija pojavljuje u muškaraca s azoospermijom, 28% u muškaraca s teškom oligozoospermijom te sporadično u muškaraca s koncentracijom spermija $>5 \times 10^6/\text{ml}$ (6%). Prema tim je podacima očekivana učestalost mikrodelecija u selektiranoj grupi muškaraca smanjene fertiliteti oko 7%.⁵

U nastojanju da se mikrodelecije u infertilnih muškaraca otkriju te da se utvrdi njihov opseg, različiti su autori istraživali i do 60 STS-biljega unutar AZF-područja. Skupljanjem rezultata prof. Manuela Simoni i sur.⁵ objavili su vodič za otkrivanje mikrodelecija Y-kromosoma. Autori su predložili rutinsko testiranje šest najčešće deletiranih STS-biljega (po dva u AZFa, AZFb i AZFc-području) čime se, prema njihovim saznanjima, može otkriti više od 90% mikrodelecija. Predložena grupa STS-biljega jesu jedinstveni i nepolimorfni sljedovi nukleotida na DNA-molekuli. Tek u slučaju pronalaska mikrodelecije, analiza se proširuje na veći broj STS-biljega kako bi se pobliže odredile granice mikrodelecije. Ista grupa upućuje i na to koje STS-biljege treba izbjegavati pri analizi mikrodelecija budući da su repetitivni i/ili raspršeni po čitavom Y-kromosomu te stoga nepouzdati za analizu. Potrebno je upozoriti da dijagnoza mikrodelecije Y-kromosoma u pacijenata nije dokaz da je smanjena reproduktivna sposobnost uzrokovana upravo mikrodelecijom, međutim, ta je uzročnopsljedična veza vrlo vjerojatna. STS-biljezi koji se rabe za rutinsku analizu mikrodelecija Y-kromosoma, navedeni su u tablici 2. Uz STS-biljege za analizu AZF-područja, analiziraju se kontrolni biljeg sY14 (SRY) te gen ZFX/ZFY koji se nalazi u pseudoautosomskom području X i Y-kromosoma. Tim su prijedlogom Simoni i sur.⁵ nastojali standardizirati analizu mikrodelecija Y-kromosoma, čime bi bila olakšana usporedba i interpretacija rezultata različitih laboratorija.

MEHANIZAM NASTANKA MIKRODELECija

Boljim upoznavanjem organizacije AZF-područja može se razumjeti zašto je to područje podložno nastanku mikrodelecija *de novo*. AZF-područje bogato je ponavljanim sljedovima nukleotida organiziranih u palindrome, iako sadrži i jedinstvene sljedove. S obzirom na primjere mikrodelecija sličnog opsega u različitim individua, pretpostavljen je zajednički mehanizam njihova nastanka. U AZFa i AZFc-području utvrđen je mehanizam homologne rekombinacije između velikih po-

navlanih sljedova nukleotida jednake orijentacije, čime se uklanja (deletira) DNA-fragment između njih.⁶ Isti se mehanizam pretpostavlja i u AZFb-području. U AZFb i AZFc utvrđeni su identični ponavljani sljedovi nukleotida među kojima je moguća homologna rekombinacija, čime nastaju mikrodelecije koje se protežu kroz oba područja. Najviša je učestalost *de novo* mikrodelecija u AZFc-području (3×10^{-4})⁷, što objašnjava činjenica da je taj dio dugog kraka građen gotovo potpuno od dugačkih direktnih i invertiranih ponavljanih sljedova nukleotida, koje nazivamo amplikonima. Članovi različitih obitelji amplikona jednaki su i do 99,8%. AZFc-područje veličine je 4,5 Mb, sadrži tri palindroma sastavljena od šest obitelji amplikona. AZFc ujedno sadrži 11 genskih obitelji s 27 potencijalno funkcionalnih gena. Vrlo je vjerojatno da fenotipski učinak mikrodelecije, barem što se tiče potpodručja AZFc, određuje činjenica koji su amplikoni zahvaćeni mehanizmom homologne rekombinacije, koliko su ti amplikoni međusobno udaljeni, kao i koji su geni tako uklonjeni.⁷

INDIKACIJE ZA ANALIZU MIKRODELECija Y-KROMOSOMA

Iako nema apsolutnih kriterija za određivanje pacijenata kandidata, na analizu mikrodelecija Y-kromosoma upućuju se pacijenti predviđeni za ICSI (engl. – intracytoplasmic sperm injection) budući da se mikrodelecije Y-kromosoma prenose na sve muško potomstvo. Stoga je, u slučaju otkrivanja mikrodelecije, prijeko potrebno genetičko informiranje o rizicima pojave smanjene reproduktivne sposobnosti u muškog potomstva. Analiza mikrodelecija Y-kromosoma još je eksperimentalno područje reproduktivne medicine i genetike, pa je pred kliničarima zasad slobodna odluka koje će pacijente testirati. Prema dosadašnjim rezultatima, molekularna analiza mikrodelecija Y-kromosoma trebala bi obuhvatiti sve muškarce s brojem spermija manjim od 5×10^6 /ml, uključujući one s varikokelom i/ili kriptorhizmom.⁸⁻¹⁰

ISPITANICI I METODE

Analiza mikrodelecija Y-kromosoma preliminarno se izvodi u Zavodu za biologiju i medicinsku genetiku Medicinskog fakulteta u Rijeci s ciljem da postane rutinska pretraga povezana s izvođenjem metoda potpomognute reprodukcije. Do sada je analizirano 75 pacijenata Odjela za planiranje obitelji, Klinike za ginekologiju i porodništvo, Kliničkoga bolničkog centra u Rijeci. Kliničke dijagnoze ispitanika uključenih u studiju su azoospermija (18) (četvorica ispitanika su operirala varikokelom), opstruktivna azoospermija (2), oligozoospermija (27), teška oligozoospermija (9) i normozoospermija (19). Ispitanici su prije uzimanja uzorka

krvi upoznati sa svrhom studije. Uzorak DNA pripremljen je iz pune krvi standardnim postupcima. Mikrodelecije Y-kromosoma ispitivane su dvjema multiplim lančanim reakcijama polimeraze (PCR) pri čemu su rabljene odgovarajuće DNA-početnice (engl. – primer). Multipla reakcija 1 uključila je DNA-početnice za STS-biljege sY84, sY127, sY254, sY14 i gen ZFX/ZFY. Multipla reakcija 2 uključila je DNA-početnice za STS-biljege sY86, sY134, sY255, sY14 i, također, gen ZFX/ZFY. Reakcije su izvedene u ukupnom volumenu od 10 μ l. Reakcijska smjesa uključila je 50 ng svakog DNA-uzorka, 1x pufer za lančanu reakciju polimeraze, 1,5 mM MgCl₂, 200 μ mol/l deoksinukleotidtrifosfata (dNTP), 0,5 μ mol/l svakog para početnica i 5U/ μ l Taq DNA-polimeraze. Reakcija je izvedena u uređaju za lančanu reakciju polimeraze (Eppendorf Mastercycler personal) prema programu: početna denaturacija na 94°C 5 minuta, 30 ciklusa od 94°C 60 s, 56–62°C 60 s, 72°C 60 s. Završno produljivanje izvedeno je na 72°C 10 minuta. Produkti reakcija analizirani su elektroforezom na 80V i 2%-tnom agaroznom gelu uz dodatak etidij bromida (0,1 mg/ml).

U svakoj analizi mikrodelecija lančana reakcija polimeraze rađena je na DNA-uzorku ženske osobe (pozitivna kontrola ZFX lokusa), DNA-uzorku fertile muške osobe (pozitivna kontrola svih lokusa) te s reakcijskom smjesom bez DNA-uzorka (negativna kontrola).

REZULTATI I RASPRAVA

Analiza mikrodelecija Y-kromosoma široko je prihvaćena metoda čije značenje postaje sve veće s obzirom na usavršavanje metoda potpomognute reprodukcije čovjeka. Metoda ICSI omogućuje dobivanje potomstva muškarcima izrazito smanjene reproduktivne sposobnosti, čime se potencijalni čimbenici neplodnosti prenose na sljedeću generaciju. Mikrodelecije Y-kromosoma, prema literaturi, čine mogući uzrok neplodnosti muškaraca u prosječno 7% slučajeva idiopatske neplodnosti. Skupina ispitanika s najvećim rizikom za pojavu mikrodelecija (muškarci s azoospermijom) u našem je uzorku razmjerno mala (18 ispitanika), kao i skupina onih s teškim oblikom oligozoospermije (9 ispitanika), što znači da zasad očekujemo pronalazak mikrodelecije u jednog do dva ispitanika. Treba istaknuti da analiza obuhvaća šest STS-biljega u AZF-području Y-kromosoma, koji bi, prema Simoni i sur.⁵ trebali pokrivati više od 90% mikrodelecija. Analizom rezultata drugih autora može se uočiti da su mikrodelecije kontinuirane te da obično zahvaćaju niz susjednih lokusa unutar pojedinog AZF-područja, ili se kontinuirano protežu preko dva ili više područja (od AZFa do AZFc).^{2,6,11} Thangaraj i sur.¹ objavili su nekoliko slučajeva u kojima su mikrodelecije isprekidane, odnosno, uz veću mikrodeleciju u AZFc-području deletirani su i pojedinačni lokusi u AZFa.

Uporaba velikog broja STS-biljega za detekciju mikrodelecija nije se pokazala suviše učinkovitom budući da bi barem neke od tih delecija mogle biti polimorfne varijante. Prijedlog Simoni i sur.⁵, koji se temelji na većini dosad objavljenih rezultata, zapravo je pokušaj da se dobiju odgovori na pitanja koja je stvarna učestalost mikrodelecija u muškaraca smanjene reproduktivne sposobnosti, koje su mikrodelecije klinički značajne, u kojih je pacijenata indicirana molekularna analiza mikrodelecija i koje bi STS-biljege trebalo analizirati. Ta su pitanja važna ne samo za dijagnozu mikrodelecija već i za genetičko informiranje u potpomognutoj reprodukciji. Mikrodelecije Y-kromosoma mogu se prenijeti s oca na sinove, a zabilježeno je i povećanje opsega mikrodelecije pri prijenosu iz jedne generacije u drugu.^{12,13} Što se tiče prognostičke vrijednosti dijagnoze mikrodelecija, pokazalo se da one više distalno (AZFc) mogu biti kompatibilne s određenim stupnjem spermatogeneze te

se u azoospermicnih muškaraca ili u muškaraca s teškom oligozoospermijom s AZFc-mikrodelecijama nađu zreli spermiji u ejakulatu ili se mogu ekstrahirati metodom TESE (engl. – testicular sperm extraction), dok to nije slučaj u onih s proksimalnim mikrodelecijama (AZFa i AZFb).¹⁴

Mikrodelecije Y-kromosoma mogu biti uzrokom nestabilnosti toga kromosoma i uzrokovati njegov gubitak u dijelu stanica. Stoga, nalaz stanične linije 45,X pored normalne 46,XY može upućivati na prisutnost mikrodelecija. Neki autori preporučuju višebojnu FISH-analizu na somatskim, a po mogućnosti i germinativnim stanicama u svrhu detekcije gonadnog mozaicizma u pacijenata s mikrodelecijama koji se žele podvrgnuti metodi potpomognute reprodukcije ICSI-ja¹⁵. Povezano s izvođenjem ICSI-ja, predlaže se i preimplantacijska genetička dijagnoza za otkrivanje aberacija Y-kromosoma.¹⁶

Tablica 1. Geni uključeni u odvijanje spermatogeneze i njihov položaj na humanom Y-kromosomu

Table 1 Genes involved in spermatogenesis and their position in human Y-chromosome

Oznaka gena	Ime gena (engl.)	AZF područje
USP9Y (DFFRY)	ubiquitin-specific protease 9, Y chromosome (Drosophila fat facets related, Y linked)	AZFa
UTY	ubiquitously transcribed TPR gene on Y chromosome	
DBY		
VCY1 (BPY1)	variably charged 1, Y chromosome (basic protein on Y chromosome 1)	AZFb
RBM1	RNA-binding motif 1	
RBM2	RNA-binding motif 2	
CDY1	chromodomain protein on Y chromosome 1	
CDY2	chromodomain protein on Y chromosome 2	AZFc
DAZ	deleted in azoospermia	
VCY2 (BPY2)	variably charged 2, Y chromosome (basic protein on Y chromosome 2)	
BPY2	basic protein on Y chromosome 2	

Tablica 2. STS-biljezi za rutinsku analizu mikrodelecija Y-kromosoma

Table 2 STS-markers for routine analysis of Y-chromosome microdeletions

AZFa		AZFb		AZFc		kontrolni biljezi**	
STS-biljeg	pb	STS-biljeg	pb				pb
SY84	326	sY127	274	sY254*	350-400	sY14 (SRY)	472
SY86	326	sY134	301	sY255*	126	ZFX/ZFY	495

* nalazi se u genu DAZ

** ZFX/ZFY-gen je unutarnja kontrola koja hibridizira s DNA i muškaraca i žena

Broj naših dosadašnjih ispitanika razmjerno je malen, posebice grupa s najvećim rizikom za mikrodelecije, što je vjerojatno razlog zašto ih još nismo otkrili. Potrebno je proširiti analizu na znatno veći broj ispitanika te utvrditi učestalost mikrodelecija Y-kromosoma u našoj populaciji. Budući da za većinu gena otkrivenih u AZF-području Y-kromosoma ne znamo više od toga da su izraženi isključivo ili većim dijelom u testisu, u budućim će istraživanjima u središtu pozornosti biti i sami AZF- geni i njihovi mogući funkcionalni polimorfizmi.

LITERATURA

1. Thangaraj K, Gupta NJ, Pavani K, Reddy AG, Subramanian S, Selvi Rani D, Ghosh B, Chakravarti B, Singh L. Y Chromosome deletions in Azoospermic men in India. *J Androl* 2003; 24:588-597
2. 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
3. Bor P, Hindkjaer J, Ingerslev HJ, Kølvrå S. Multiplex PCR for Screening of Microdeletions on the Y Chromosome. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18:291-298
4. Radojčić Badovinac A, Buretić-Tomljanović A, Starčević N, Kapović M, Vlastelić M, Randić Lj. Chromosome Studies in Patients with Defective Reproductive Success. *AJRI* 2000; 44:279-283
5. Simoni M, Bakker E, Eurlings MCM, Matthijs G, Moro E, Müller CR, Vogt PH. Laboratory guidelines for the molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *European Molecular Genetics Quality Network (EMQN)* 2001; 1-7
6. Ferlin A, Moro E, Rossi A, Dallapicola B, Foresta C. The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb region): sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J Med Genet* 2003; 40:18-24
7. Yen P. The fragility of fertility. *Nature Genet* 2001; 29:243-244
8. Simoni M, Kamischke A, Nieschlag E. Current status of the molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions in the work-up of male infertility. *Hum Reprod* 1998; 13:1764-1768
9. Krausz C, Rajpert-De Meyts E, Frydelund-Larsen L, Quintana-Murci L, McElreavey K, Skakkebaek NE. Double-Blind Y Chromosome Microdeletion Analysis in Men with Known Sperm Parameters and Reproductive Hormone profiles: Microdeletions Are Specific for Spermatogenic Failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:2638-2642
10. Kunej T, Zorn B, Peterlin B. Y chromosome microdeletions in men with cryptorchidism. *Fertil Steril* 2003; 79:1559-1565
11. Vogt PH, Edelman A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Köhn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C, Hartman M, Hartchuh W, Meschede D, Behre HM, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Gröne H-J, Jung A, Engel W, Haidl G. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996; 7:933-943
12. Rolf C, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. Natural transmission of a partial AZFb deletion of the Y chromosome over three generations: Case report. *Hum Reprod* 2002; 17:2267-2271
13. Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC. Clinical characterization of 42 oligozoospermic or azoospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum Reprod* 2002; 17:2813-2824
14. Kleiman S, Bar-Shira Maymon B, Yogeve L, Paz G, Yavetz H. Prognostic value of Y deletion analysis. The prognostic role of the extent of Y microdeletion on spermatogenesis and maturity of Sertoli cells. *Hum Reprod* 2001; 16:399-402
15. Siffroi JP, Le Bourhis C, Krausz C, Barboux S, Quintana-Murci L, Kanafani S, Rouba H, Bujan L, Bourrouillou G, Seifer I, Boucher D, Fellous M, McElreavey K, Dadoune JP. Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Hum Reprod* 2000; 15:2559-2562
16. Mansour R. Preimplantation genetic diagnosis for Y-linked diseases: why not? *RBM Online* 2004; 8:144-145