

DOI: 10.31082/1728-452X-2019-207-9-50-54

УДК 616.6

МИКРОДЕЛЕЦИИ ГЕНА AZF Y-ХРОМОСОМЫ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CFTR У ПАЦИЕНТОВ С АЗООСПЕРМИЕЙ И ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ ОЛИГОЗОСПЕРМИИ

Ануар Т. АМАНОВ, <https://orcid.org/0000-0003-3611-0052>,
Марат А. МАКАЖАНОВ, <https://orcid.org/0000-0002-1441-4517>,
Лаззат Н. ТУЛЕЕВА, <https://orcid.org/0000-0002-6126-2915>,
Гүлзира Б. ДАКЕНОВА, <https://orcid.org/0000-0002-5725-6475>

АО «Научный центр урологии им. академика Б.У. Джарбусынова», г. Алматы, Республика Казахстан

Мужской фактор бесплодия составляет около половины случаев бесплодия пары. В более чем 60% случаев снижение функции яичек неизвестно, и они могут иметь неопознанную генетическую аномалию.

Цель исследования. Выявление молекулярно-генетических изменений, которые целесообразно одновременно тестировать на человеке с неопределенной в настоящее время формой бесплодия, чтобы повысить информативность лабораторной диагностики.

Материал и методы. У 1100 мужчин 29-40 лет с отсутствием детей в браке и у 94 здоровых мужчин, прошедших обследование в АО «Научный центр урологии им. Б.У. Джарбусынова», были проведены забор эякулята для проведения спермограммы, забор венозной крови для определения микроделений в гене AZF и полиморфизма гена CFTR. Оценку параметров спермы, таких как подвижность, концентрация и морфология, проводили с помощью автоматической программы «Видео-тест сперм 3.2» производства ООО «Видео-тест», г. Санкт-Петербург, Россия, с использованием флуоресцентного микроскопа Axioskop 40.

Далее всем пациентам проводили определение микроделений в гене AZF методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (ДНК технология, Россия).

Результаты и обсуждение. Наибольшее количество делеций было обнаружено в субрегионе AZFc (53,5%), тогда как частота делеции в AZFa, AZFb или комбинированных делециях двух и трех субрегионов составляла 5,0%, 15,0% и 26,5% соответственно. Гетерозиготный носитель тяжелых мутаций CFTR был обнаружен у 3,0% пациентов. Наиболее частым вариантом полиморфизма были rs397508345, rs1060504846 (53,3%), за которым следовали rs387906368 (11,1%) и rs397508349 (6,2%).

Выводы

- У бесплодных мужчин целесообразно выявлять делеции AZF и наиболее частые полиморфизмы CFTR, включая rs397508345, rs1060504846, rs387906368, rs397508349.

- Расширенный анализ мутаций CFTR оправдан только у пациентов с подтвержденным obstructивным бесплодием.

Ключевые слова: мужское бесплодие, микроделеции генов Y-хромосомы, полиморфизм генов.

Для цитирования: Аманов А.Т., Макажанов М.А., Тулеева Л.Н., Дакенова Г.Б. Микроделеции гена AZF Y-хромосомы и полиморфизм гена CFTR у пациентов с азооспермией и тяжелой формой олигозооспермии // Медицина (Алматы). – 2019. - №9 (207). – С. 50-54. DOI: 10.31082/1728-452X-2019-207-9-50-54

Т Ы Ж Ы Р Ы М

АЗООСПЕРМИЯ ЖӘНЕ АУЫР ОЛИГОЗОСПЕРМИЯСЫ БАР НАУҚАСТАРДАҒЫ AZF Y-ХРОМОСОМАЛЫҚ ГЕННІҢ ЖӘНЕ CFTR ГЕННІҢ ПОЛИМОРФИЗМІНІҢ МИКРОЭЛЕМЕНТТЕРІ

Әнуар Т. АМАНОВ, <https://orcid.org/0000-0003-3611-0052>,
Марат А. МАКАЖАНОВ, <https://orcid.org/0000-0002-1441-4517>,
Ләззат Н. ТӨЛЕЕВА, <https://orcid.org/0000-0002-6126-2915>,
Гүлзира Б. ДӘКЕНОВА, <https://orcid.org/0000-0002-5725-6475>

«Академик Б.У. Жарбусынов атындағы урология ғылыми орталығы» АҚ,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы

Ерлердегі бедеулік факторы ерлі-зайыптылардың бедеулік жағдайларының жартысына жуығын құрайды. 60%-дан астам жағдайда тестикалық функцияның төмендеуі белгісіз және оларда белгісіз генетикалық ауытқулар болуы мүмкін.

Зерттеудің мақсаты. Зертханалық диагностиканың тиімділігін арттыру үшін қазіргі уақыт-

Контакты: Тулеева Лаззат
Наматуллаевна, магистр
здравоохранения, старший
научный сотрудник, АО
«Научный центр урологии им.
академика Б.У. Джарбусынова»,
г. Алматы, ул. Басенова, 2,
e-mail: lazzatul@mail.ru

Contacts: Lazzat N Tuleyeva,
Master of Health, Senior
Researcher of Scientific Center
of Urology n.a. Academician
B.U. Dzharbussynov, Almaty,
st. Basenova, 2,
e-mail: lazzatul@mail.ru

Поступила 26.09.2019

Рецензент: Сенгирбаев Дауренбек Исакович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой урологии, Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы.

та анықталмаған бедеулік формасы бар ер адамға бір уақытта сынақтан өткізуге кеңес беретін молекулалық-генетикалық өзгерістерді анықтау.

Материал және әдістері. 29-40 жастағы 1100 бедеу ер адамда және 94 дені сау еркек Б.У. Жарбосынов атындағы Урология ғылыми орталығында қаралды. Науқастардан спермограмма үшін эякулят алынды, AZF генінде және CFTR генінің полиморфизмінде микроделецияларды анықтау үшін веноздық қан алынды. Қозғалыс, концентрация және морфология сияқты сперматозоидтар Video Test Sperm 3.2 автоматтандырылған Video Test LLC, Санкт-Петербург, Ресей, Axioskop 40 флуоресцентті микроскоптың көмегімен бағаланды. Әрі қарай, барлық пациенттерге нақты уақыт режимінде мультиплексті ПТР (ДНҚ технологиясы, Ресей) арқылы AZF геніндегі микроделецияны анықтау жүргізілді.

Нәтижелері және талқылауы. Микроделециялардың ең көп саны AZFc субрегионында (53,5%) табылды, ал AZFa, AZFb немесе екі және үш субрегиондардың біріктірілген жою деңгейі сәйкесінше 5,0%, 15,0% және 26,5% болды. CFTR ауыр мутациясының гетерозиготалы тасымалдаушысы пациенттердің 3,0%-ында анықталды. Ең көп таралған полиморфизмдер rs397508345, rs1060504846 (53,3%), одан кейін 387906368 (11,1%) және rs397508349 (6,2%) болды.

Қорытынды

- Бедеулікке шалдыққан ер адамдарда AZF жойылуын және CFTR-тің жиі кездесетін полиморфизмдерін, оның ішінде rs397508345, rs1060504846, rs387906368, rs397508349 анықтаған жөн.

- CFTR жетілдірілген мутациялық анализі тек обструктивті бедеулігі бар емделушілерге негізделген.

Негізгі сөздер: ерлер бедеулігі, хромосомадағы гендердің микроделециясы, гендік полиморфизм.

SUMMARY

MICRODELETIONS OF THE AZF Y-CHROMOSOME GENE AND CFTR GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH AZOOSPERMY AND SEVERE OLIGOZOOSPERMY

Anuar T. AMANOV, <https://orcid.org/0000-0003-3611-0052>,

Marat A. MAKAZHANOV, <https://orcid.org/0000-0002-1441-4517>,

Lazzat N. TULEYEVA, <https://orcid.org/0000-0002-6126-2915>,

Gulzira B. DAKENOVA, <https://orcid.org/0000-0002-5725-6475>

Scientific Center of Urology n.a. B.U. Dzharbussynov, Almaty, Republic of Kazakhstan

Male infertility factor accounts for about half of a couple's infertility cases. In more than 60% of cases, a decrease in testicular function is unknown, and they may have an unidentified genetic abnormality.

The purpose of the study is to identify molecular genetic changes that are advisable to simultaneously test on a person with a currently undefined form of infertility in order to increase the usefulness of laboratory diagnostics.

Material and methods. In 1100 men 29-40 years old with no children in marriage and in 94 healthy men who were examined at Scientific Center of Urology n.a. B.U. Dzharbussynov, an ejaculate was taken for spermograms, venous blood was taken to determine microdeletions in the AZF gene and CFTR gene polymorphism. Sperm parameters, such as motility, concentration, and morphology, were evaluated using the Video Test Sperm 3.2 automated program manufactured by Video Test LLC, St. Petersburg, Russia, using an Axioskop 40 fluorescence microscope.

Further, all patients underwent determination of microdeletions in the AZF gene by real-time multiplex PCR (DNA technology, Russia).

Results and discussion. The largest number of deletions was found in the AZFc subregion (53.5%), while the deletion rate in AZFa, AZFb, or combined deletions of two and three subregions was 5.0%, 15.0%, and 26.5%, respectively. A heterozygous carrier of heavy mutations of CFTR was found in 3.0% of patients. The most common polymorphisms were rs397508345, rs1060504846 (53.3%), followed by rs387906368 (11.1%) and rs397508349 (6.2%).

Conclusion

- In infertile men, it is advisable to detect AZF deletions and the most frequent polymorphisms of CFTR, including rs397508345, rs1060504846, rs387906368, rs397508349.

- An extended CFTR mutation analysis is justified only in patients with confirmed obstructive infertility.

Keywords: male infertility, microdeletion of genes in the chromosome, gene polymorphism.

For reference: Amanov AT, Makazhanov MA, Tuleyeva LN, Dakenova GB. Microdeletions of the AZF Y-chromosome gene and CFTR gene polymorphism in patients with azoospermia and severe oligozoospermia. *Meditsina (Almaty) = Medicine (Almaty)*. 2019;9(207):50-54 (In Russ.). DOI: 10.31082/1728-452X-2019-207-9-50-54

Бесплодие можно определить как неспособность супружеской пары зачать ребенка в течение одного года при регулярной половой жизни. Эта проблема затрагивает приблизительно от 10 до 15% супружеских пар во всем мире, и мужское бесплодие составляет 50% случаев

[1, 2]. Генетические факторы играют общепризнанную роль в мужском бесплодии, и генетические изменения Y-хромосомы особенно важны [3, 4]. Основными генетическими факторами мужского бесплодия являются хромосомные аномалии и микроделеции Y-хромосомы (YCMs) [5]. YCM

(микроделений Y-хромосомы) встречаются примерно у 10-15% пациентов с азооспермией и от 5 до 10% пациентов с тяжелой формой олигоспермией и обычно обнаруживаются в локусе фактора азооспермии (AZF) в диапазоне q11,23 [2, 4, 6]. Детальный молекулярный анализ далее подразделяет локус AZF на три (возможно, четыре) субрегиона: AZFa, AZFb и AZFc вместе с четвертой возможной областью AZFd [7]. Микроделеции в этих областях приводят к различной степени сперматогенетической недостаточности; однако функция гена AZF и точные генотип-фенотипические отношения микроделений и бесплодия в локусе AZF полностью не изучены. Полимеразная цепная реакция с метками последовательностей (STS-PCR) признана «золотым стандартом» для лабораторного диагноза микроделеции AZF [8, 9]; однако технология многофакторной суспензионной матрицы (MASA) также обеспечивает быстрый, чувствительный и высокопроизводительный метод обнаружения микроделений Y-хромосомы [10].

Хотя распространенность микроделений AZF была тщательно изучена, результаты различных географически и этнически различных групп населения противоречивы. Основываясь на имеющихся данных, есть некоторые четко установленные моменты. Во-первых, микроделеции AZF распространены у мужчин с азооспермией и тяжелой олигозооспермией, а также у потомков этих мужчин, зачатых с помощью ВРТ. Во-вторых, хотя большинство микроделений AZF имеют происхождение *de novo*, микроделеции AZF могут передаваться по вертикали потомству, а микроделеции AZF, передаваемые по вертикали, могут передаваться идентично или с расширениями, как при естественной беременности, так и при ВРТ. Наконец, поскольку эта информация имеет диагностическую, прогностическую, профилактическую и этическую ценность для бесплодных пар, крайне важно проводить скрининг на наличие определенных делеций AZF и других хромосомных аномалий у бесплодных мужчин.

Микроделеции в области AZF Y-хромосомы, сложные гетерозиготы с тяжелыми и легкими мутациями CFTR в качестве маркера предрасположенности часто изучаются как генетические причины мужского бесплодия.

Цель нашей работы - выявление молекулярно-генетических изменений, которые целесообразно одновременно тестировать на человеке с неопределенной в настоящее время формой бесплодия, чтобы повысить информативность лабораторной диагностики.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

У 1100 мужчин 29-40 лет с отсутствием детей в браке и у 94 здоровых мужчин, прошедших обследование в АО «Научный центр урологии им. Б.У. Джарбусынова», были проведены забор эякулята для проведения спермограммы, забор венозной крови для определения микроделений в гене AZF и полиморфизма гена CFTR.

Оценка параметров спермы, таких как подвижность,

концентрация и морфология, проводили с помощью автоматической программы «Видео-тест сперм 3.2» производства ООО «Видео-тест», г. Санкт-Петербург, Россия, с использованием флуоресцентного микроскопа Axioskop 40 согласно рекомендациям ВОЗ, 2010 г. Для этого 10-20 мкл разжиженной спермы загружали в камеру Маклера, покрывали стеклом и анализировали при увеличении $\times 20$.

Делеции AZF определяли методом мультиплексной ПЦР с использованием 10 STS-маркеров (sY83, sY84, sY86, sY127, sY134, sY143, sY152, sY157, sY254, sY255) и двух контрольных локусов SRY с детекцией результатов в режиме реального времени с помощью мультиплексной ПЦР. Полиморфизм в гене CFTR (rs397508345, rs1060504846, rs387906368, rs397508349) был обнаружен с помощью ПЦР согласно инструкции производителя (ДНК технология, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В общей сложности были проанализированы 1200 случаев, в том числе 850 - с азооспермией, 250 - с олигозооспермией, 94 - с нормозооспермией на распространенность делеций в гене AZF Y-хромосомы. Также на наличие полиморфизма гена CFTR. Из 1100 мужчин, страдающих бесплодием, которые имели заключение спермограммы: азооспермия и олигозооспермия, у 95 (8,6%) были выявлены микроделеции в различных локусах гена AZF Y-хромосомы. Частота микроделений была 12,0% (102 из 850) в группе пациентов с азооспермией по сравнению 8,4% (21 из 250) в группе пациентов с олигозооспермией. В контрольной группе у мужчин с нормозооспермией делеции и полиморфизмы не были обнаружены.

Наибольшее количество делеций было обнаружено в субрегионе AZFc (53,5%), тогда как частота делеции в AZFa, AZFb или комбинированных делециях двух и трех субрегионов составляла 5,0%, 15,0% и 26,5% соответственно (рис. 1).

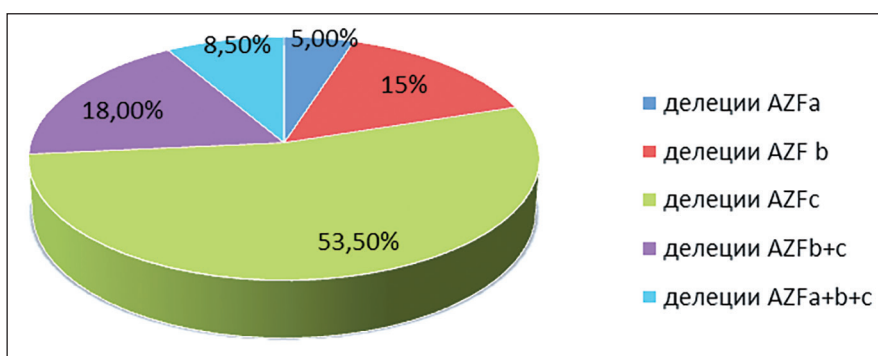


Рисунок 1 - Спектр делеционных нарушений длинного плеча (локуса AZF) Y-хромосомы у мужчин с нарушением репродуктивной функции

У всех обследованных пациентов исследуемой группы, имеющих полные AZF делеции, выявлена секреторная азооспермия либо олигозооспермия тяжелой степени с концентрацией сперматозоидов менее 2 млн/мл. У носителей частичных делеций региона AZFc отмечено выраженное варьирование в степени нарушения сперматогенеза (от азооспермии до олигоастенозооспермии).

Исследование Y-хромосомы на наличие микроделений в локусе AZF может быть выполнено с помощью различных молекулярно-генетических методов, наибольшее распространение получила мультиплексная ПЦР. Для детекции делеций в каждом регионе (AZFa, AZFb и AZFc) необходимо исследовать наличие ≥ 2 маркеров, специфичных для каждого региона, а также 1-2 маркера внутреннего контроля реакции. “Золотым стандартом” является Руководство по лабораторной диагностике микроделений Y-хромосомы, предложенное Европейской Ассоциацией андрологов (ЕАА) и принятой Европейской организацией по контролю качества молекулярно-генетической диагностики, EMQN [Krausz et al., 2014]. В нем описана методика детекции микроделений Y-хромосомы, захватывающих 1-3 региона AZF, с помощью мультиплексной ПЦР со следующим набором STS-маркеров (sY84, sY86 для AZFa, sY127, sY134 для AZFb и sY254, sY255 для AZFc, маркеры для внутреннего контроля реакции SRY и ZFX/Y).

Гетерозиготный носитель тяжелых мутаций CFTR был обнаружен у 3,0% пациентов в сочетании с делециями AZFb+c. Наиболее частыми вариантами полиморфизма были rs397508345, rs1060504846 (53,3%), за которым следовали rs387906368 (11,1%) и rs397508349 (6,2%) (рис. 2).

Мутации в гене CFTR выявлены у 36 (3,0%) пациентов с обструктивной формой азооспермии. Среди генетических факторов (AZF, CFTR) чаще всего отмечены микроделения региона AZFc, выявленные у 54 (53,5%) пациентов исследуемой группы (рис. 3).

Наличия полной делеции AZF-региона, мутаций в гене CFTR достаточно для развития тяжелых генетически обусловленных форм мужского бесплодия, как правило, первичного. Для данных микроделений Y-хромосомы характерно не развитие процесса сперматогенеза, вплоть до синдрома наличия только клеток Сертоли и секреторной азооспермии, криптозооспермии или олигозооспермии тяжелой степени.

ВЫВОДЫ

Во время первичной комплексной лабораторной диагностики в гетерогенной группе бесплодных мужчин целесообразно выявлять делеции AZF и наиболее частые полиморфизмы CFTR, включая rs397508345, rs1060504846, rs387906368, rs397508349. Более полный анализ мутаций CFTR оправдан только у пациентов с подтвержденным обструктивным бесплодием.

Несмотря на колоссальные достижения в последние десятилетия, функции генов AZF до сих пор не совсем

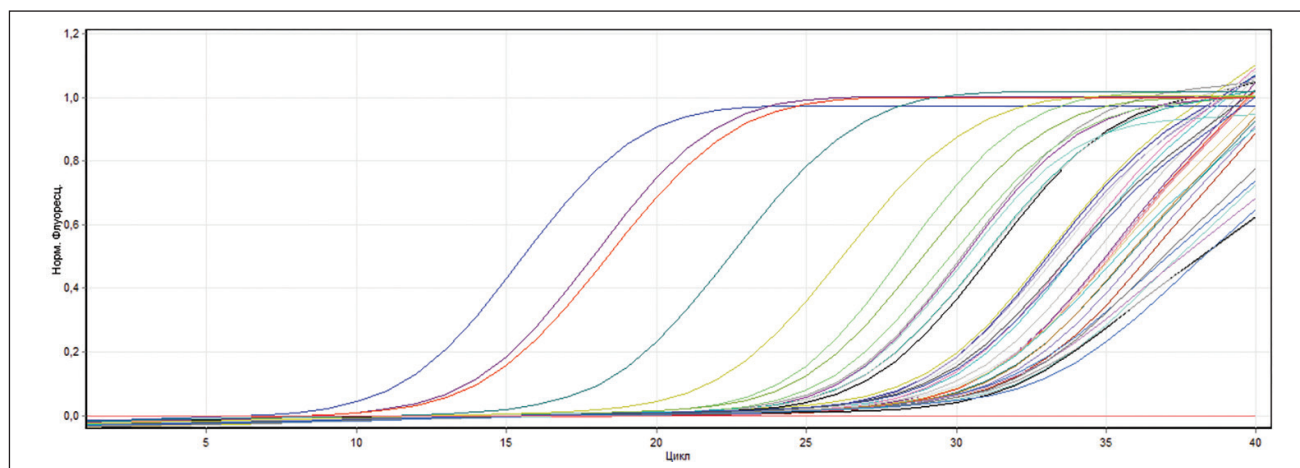


Рисунок 2 - Полиморфизмы rs397508345, rs1060504846 в гене CFTR

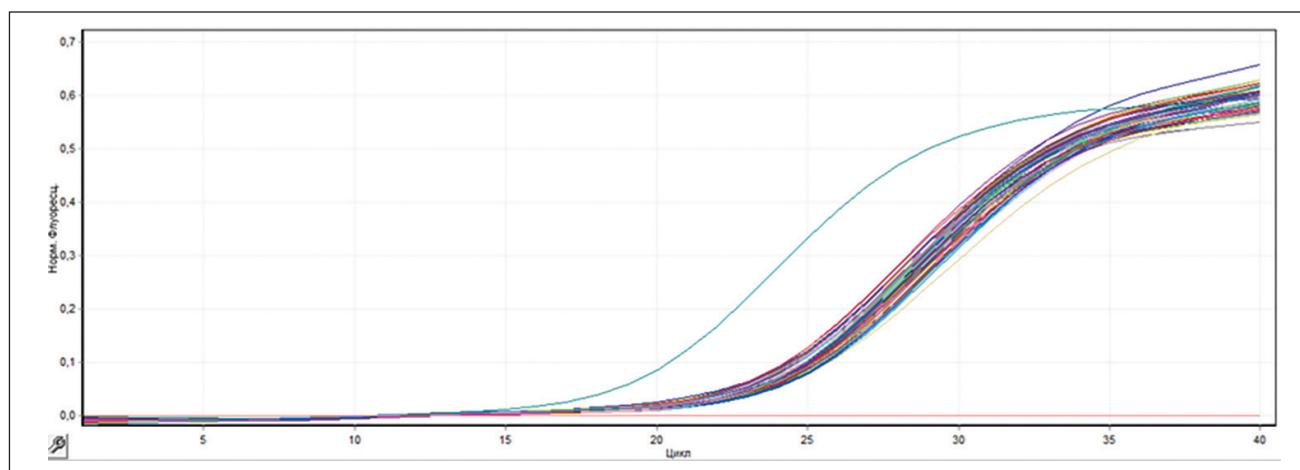


Рисунок 3 - Результат делеции регионов гена AZF

понятны. Отсутствие легкодоступных животных моделей и линий сперматогенных клеток *in vitro* являются основными препятствиями для изучения функций генов AZF в нормальном сперматогенезе. Кроме того, биологические свойства областей AZF представляются довольно сложными. Эта сложность иллюстрируется огромной изменчивостью, связанной с последовательностями AZFb и AZFc, и сложной регуляцией их соответствующих генетических детерминант. Поэтому будущие исследования должны быть сосредоточены на полном секвенировании разнообразия AZF по всей Y-хромосоме и проведении более углубленной функциональной характеристики генов AZF.

Поскольку идентификация новых молекулярных микроделеций AZF и связанных с ними фенотипов имеет большое значение для клинического скрининга бесплодных пациентов, крайне необходимо усовершенствование существующих методов или создание новых подходов для лабораторного и клинического скрининга микроделеций AZF в большом количестве образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Bushnik T., Cook J.L., Yuzpe A.A., Tough S., Collins J. Estimating the prevalence of infertility in Canada // *Human Reproduction*. - 2012. - No27. - P. 738-746. <https://doi.org/10.1093/humrep/der465>
- 2 Zhang Y.S., Dai R.L., Wang R.X., Zhang H.G., Chen S., Liu R.Z. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from northeastern China // *Urology*. - 2013. - No82. - P. 584–588. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2017.04.024>
- 3 Navarro-Costa P., Plancha C.E., Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility? // *J. Biomed Biotechnol.* - 2010. - No 2010. - P. 936569 <https://doi.org/10.1155/2010/936569>
- 4 Suganthi R., Vijesh V.V., Vandana N., Fathima Ali Benazir J. Y chorosomal microdeletion screening in the workup of male infertility and its current status in India // *Int J Fertil Steril.* - 2014. - No7. - P. 253–266. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24520494>
- 5 Poongothai J., Gopenath T.S., Manonayaki S. Genetics of human male infertility // *Singapore Med J.* - 2009. - No 50. - P. 336–347. PMID: 19421675
- 6 Zhang F., Li L., Wang L., Yang L., Liang Z., Li J., Jin F., Tian Y. Clinical characteristics and treatment of azoospermia and severe oligospermia patients with Y-chromosome microdeletions // *Mol Reprod Dev.* - 2013. - No 80. - P. 908–915. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26628946>
- 7 Vineeth V.S., Malini S.S. A Journey on Y Chromosomal Genes and Male Infertility // *Int J Hum Genet.* - 2011. - No 11. - P. 203–215. <https://dx.doi.org/10.1186%2F12958-018-0330-5>
- 8 Al-Achkar W., Wafa A., Moassass F. Cytogenetic abnormalities and Y-chromosome microdeletions in infertile Syrian males // *Biomed Rep.* - 2013. - No1. - P. 275–279. <https://dx.doi.org/10.3892%2Fbr.2012.40>
- 9 Ambulkar P.S., Sigh R., Reddy M., Varma P.S., Gupta D.O., Shende M.R., Pal A.K. Genetic Risk of Azoospermia Factor (AZF) Microdeletions in Idiopathic Cases of Azoospermia and Oligozoospermia in Central Indian Population // *J Clin Diagn Res.* - 2014. - No 8. - P. 88–91. <https://dx.doi.org/10.7860%2FJCDR%2F2014%2F7680.4116>
- 10 Sun K., Chen X.F., Zhu X.B., Hu H.L., Zhang W., Shao F.M., Li P., Miao Q.L., Huang Y.R., Li Z. A new molecular diagnostic approach to assess Y chromosome microdeletions in infertile men // *J Int Med Res.* - 2012. - No 40. - P. 237–248. <https://doi.org/10.1177/147323001204000124>

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Авторы не получали гонорар за статью.

Вклад авторов

Аманов Ануар Турсунжанович – существенный вклад в концепцию научной работы, дизайн исследования, окончательное утверждение публикуемой статьи,

Макажанов Марат Абзалович - написание раздела «Материал и методы», разработка анкет для пациентов, ведение пациентов,

Тулеева Лаззат Наматуллаевна - написание раздела «Результаты исследования», проведение лабораторных исследований, заключение, подготовка окончательного варианта статьи,

Дакенова Гульзира Болатовна - сбор и обработка материалов исследования, участие в написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

- 1 Bushnik T, Cook JL, Yuzpe AA, Tough S, Collins J. Estimating the prevalence of infertility in Canada. *Human Reproduction*. 2012;27:738-746. <https://doi.org/10.1093/humrep/der465>
- 2 Zhang YS, Dai RL, Wang RX, Zhang HG, Chen S, Liu RZ. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from northeastern China. *Urology*. 2013;82:584–588. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2017.04.024>
- 3 Navarro-Costa P, Plancha CE, Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility? *J. Biomed Biotechnol.* 2010;2010:936569. <https://doi.org/10.1155/2010/936569>
- 4 Suganthi R, Vijesh VV, Vandana N, Fathima Ali Benazir J. Y chorosomal microdeletion screening in the workup of male infertility and its current status in India. *Int J Fertil Steril.* 2014;7:253–266. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24520494>
- 5 Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J.* 2009;50:336–347. PMID: 19421675
- 6 Zhang F, Li L, Wang L, Yang L, Liang Z, Li J, Jin F, Tian Y. Clinical characteristics and treatment of azoospermia and severe oligospermia patients with Y-chromosome microdeletions. *Mol Reprod Dev.* 2013;80:908–915. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26628946>
- 7 Vineeth VS, Malini SS. A Journey on Y Chromosomal Genes and Male Infertility. *Int J Hum Genet.* 2011;11:203–215. <https://dx.doi.org/10.1186%2F12958-018-0330-5>
- 8 Al-Achkar W, Wafa A, Moassass F. Cytogenetic abnormalities and Y-chromosome microdeletions in infertile Syrian males. *Biomed Rep.* 2013;1:275–279. <https://dx.doi.org/10.3892%2Fbr.2012.40>
- 9 Ambulkar PS, Sigh R, Reddy M, Varma PS, Gupta DO, Shende MR, Pal AK. Genetic Risk of Azoospermia Factor (AZF) Microdeletions in Idiopathic Cases of Azoospermia and Oligozoospermia in Central Indian Population. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:88–91. <https://dx.doi.org/10.7860%2FJCDR%2F2014%2F7680.4116>
- 10 Sun K, Chen XF, Zhu XB, Hu HL, Zhang W, Shao FM, Li P, Miao QL, Huang YR, Li Z. A new molecular diagnostic approach to assess Y chromosome microdeletions in infertile men. *J Int Med Res.* 2012;40:237–248. <https://doi.org/10.1177/147323001204000124>