



REVISIÓN

Infertilidad masculina asociada a las microdeleciones del cromosoma Y. Opciones reproductivas y riesgos de la descendencia



Purificación Hernández-Vargas^{a,*}, Emilia Mateu^b, Carmen Rubio^b,
Inmaculada Pérez-Cano^a, José Landeras^c y Manuel Muñoz^a

^a Instituto Valenciano de Infertilidad, Alicante, España

^b PGD Molecular Cytogenetics, IGENOMIX, Valencia, España

^c Instituto Valenciano de Infertilidad, Murcia, España

Recibido el 13 de marzo de 2015; aceptado el 10 de diciembre de 2015

Disponible en Internet el 16 de febrero de 2016

PALABRAS CLAVE

Microdeleciones del
cromosoma Y;
Inyección
espermática
intracitoplasmática y
recuperación
espermática;
Anomalías
cromosómicas;
Riesgo de
descendencia

Resumen Las microdeleciones del cromosoma Y se consideran una de las causas más comunes de la infertilidad masculina. La ausencia de algunos genes localizados en ciertas regiones del cromosoma Y, conocidas como «factor de azoospermia», conduce a fallo de la espermatogénesis, aunque en muchos casos se consigue recuperar espermatozoides del eyaculado o del testículo. Su detección puede resultar crucial en el tratamiento clínico de estos pacientes, pues permite predecir, en pacientes azoospermicos con ciertas microdeleciones, la presencia de espermatozoides en el testículo, además de prevenir el empleo de métodos invasivos de extracción espermática en pacientes oligozoospermicos que pudieran tener una pérdida progresiva de su producción con el tiempo.

La inyección intracitoplasmática, junto con las técnicas de recuperación espermática, han ofrecido a muchos de estos pacientes la posibilidad de concebir hijos con sus propios gametos, si bien se produce la transmisión de dicho defecto genético a la descendencia masculina. Aunque, hasta hace poco, se asumía la infertilidad como la única consecuencia clínica que heredarían los hijos varones de estos pacientes, diversos estudios han sugerido que existen otros riesgos potenciales que podrían afectar a la descendencia, como disfunciones sexuales asociadas a alteraciones de cromosomas sexuales (síndrome de Turner o Klinefelter) e incluso otros trastornos, con peores consecuencias clínicas, causados por anomalías de los autosomas. No obstante, por el momento no se ha descrito ningún caso claro de hijos de pacientes con microdeleciones con complicaciones mayores de la infertilidad, pero debemos reparar en que la primera generación de esos niños acaba de alcanzar la madurez. Además, dichas anomalías podrían bloquear el desarrollo embrionario o incrementar la incidencia de abortos, reduciendo

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: puri.hernandez@ivi.es (P. Hernández-Vargas).

KEYWORDS

Y-chromosome
microdeletions;
Intracytoplasmic
Sperm Injection and
spermatozoa
retrieval;
Chromosome
aberrations;
Risk in the offspring

las posibilidades de éxito en las parejas afectadas que acuden a los centros de reproducción asistida. Resulta imperioso, por tanto, esclarecer los riesgos reales de transmisión de anomalías diferentes a la microdelección a la descendencia y establecer el tratamiento más adecuado para estos pacientes.

© 2015 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Infertile men with Y-chromosome microdeletions. Reproductive options and genetic risk in the offspring

Abstract Y-chromosome microdeletions are currently one of the most common causes of male infertility. The absence of some genes located in certain regions in the long arm of the human Y-chromosome, known as azoospermia factor region, causes spermatogenic failure, while spermatozoa has been found in either the ejaculate or the testicle of most patients. Detection of deletions is crucial for the medical treatment of these patients, since it has a prognostic value in predicting potential success of testicular sperm retrieval in azoospermic patients with certain microdeletions, and allows avoiding invasive techniques in oligozoospermia patients whose sperm production could result in progressive worsening.

Intracytoplasmic sperm injection, together with testicular or epididymal sperm retrieval for azoospermic men, has allowed these patients to become fathers using their own gametes, but the ability to vertically transmit that genetic defect, and thus, the infertility, to the offspring has been commonly accepted. Until recently, no clinical consequences other than infertility were supposed in the sons of fathers with deletions. However, different studies in the last few years suggest other potentially risks transmitted to the offspring, such as development of sexual dysfunction due to sex chromosome abnormalities (Turner or Klinefelter syndromes) or other somatic disorders, with worse health consequences, caused by chromosome aberrations in autosomes associated with Y-chromosome microdeletions. To date, no major clinical complications other than infertility have been described in the offspring born from fathers with deletions, but it is important to remember that the first generation of those babies has just reached maturity. Moreover, the aforementioned chromosome anomalies could halt embryo development or increase miscarriage rate, reducing the chances of a successful pregnancy in affected couples attending infertility clinics. Therefore, the actual risk of transmitting different anomalies associated to microdeletions to the offspring should be clarified in order to establish the most appropriate treatment for these patients.

© 2015 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

En la actualidad, aproximadamente el 10-15% de las parejas que buscan concebir un hijo sufren infertilidad. Se estima que en la mitad de los casos las causas pueden radicar al menos en parte en el varón (Suganthi et al., 2014; Foresta et al., 2001b). Una gran proporción de los hombres infértiles cursan con una producción espermática muy escasa o nula en el eyaculado (oligozoospermia severa y azoospermia, respectivamente) debido a una alteración en alguno de los estadios de la espermatogénesis. Dichas alteraciones se relacionan con patrones histopatológicos testiculares diferentes, que oscilan desde la ausencia de células germinales (*Sertoli Cell Only Syndrome* [SCOS]) a la detención del proceso de maduración de los espermatozoides o la hipoespermatogénesis. Entre las causas más comunes de la infertilidad masculina podemos encontrar desde anomalías o infecciones del tracto genital hasta exposición a sustancias tóxicas,

alteraciones hormonales o trastornos genéticos, pero en alrededor del 30% de los casos se desconoce el origen de la infertilidad (infertilidad masculina idiopática). En las últimas décadas los grandes avances de la genética y la biología molecular aplicados a la medicina reproductiva han permitido profundizar en los mecanismos de la espermatogénesis, consiguiendo con ello caracterizar muchos trastornos inicialmente considerados como idiopáticos. Es el caso de ciertas anomalías cromosómicas como las mutaciones del gen que codifica la proteína *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR), involucradas en la fibrosis quística, o la infertilidad ligada al cromosoma Y (Cr Y) (Dohle et al., 2002; Suganthi et al., 2014).

El desarrollo de las tecnologías de análisis del ADN permitió cambiar en poco más de 3 décadas la percepción del Cr Y en el estudio de la infertilidad masculina. Mientras que inicialmente se pensaba que la función de este pequeño cromosoma se limitaba a la determinación sexual,

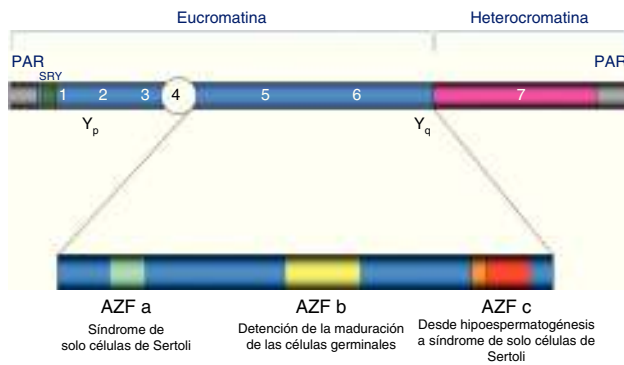


Figura 1 Diagrama del cromosoma Y. Incluye la representación de las regiones *Pseudoautosomal Region* (PAR) en los brazos corto (Yp) y largo (Yq) del cromosoma, la región *Sex-determining Region Y* (SRY) y una ampliación con las distintas regiones *Azoospermic Factor* (AZF). Bajo cada región AZF se indica el fenotipo histológico testicular característico clásico para los casos de deleción completa de dichas regiones, si bien la deleción parcial de las regiones AZFa y AZFb puede ocasionar hipospERMATOGÉNESIS.

cada vez son más las evidencias de su implicación en la regulación de la espermatogénesis y, con ello, en la patogenia de ciertos tipos de trastornos de la fertilidad masculina (Foresta et al., 2001b; Martínez-Frias, 2005). De hecho, comparado con otros, se trata del cromosoma con menor número de genes, pero con mayor porcentaje de ellos relacionados con la espermatogénesis (Li et al., 2008). Tan solo se empareja con el cromosoma X a través de 2 pequeñas regiones pseudoautosómicas (*Pseudoautosomal Region* [PAR]) que ocupan aproximadamente el 5% del cromosoma y se localizan en los extremos del brazo corto (p) y del brazo largo (q) del mismo. El resto del cromosoma lo forman una amplia región de heterocromatina y una región eucromática caracterizada por grandes bloques de secuencias repetitivas, dispuestas en estructuras palindrómicas (que se leen igual en ambas direcciones), y que parecen codificar proteínas necesarias para la fertilidad (fig. 1). Aunque esta región no sufre recombinación homóloga con el cromosoma X, razón por la que han ido acumulando con el tiempo mutaciones, y con ello un elevado polimorfismo, puede sufrir recombinación intracromosómica y conversión de secuencias gracias a la existencia de palíndromos (Suganthi et al., 2014; Li et al., 2008).

Los primeros datos sobre la existencia de factores genéticos relacionados con la fertilidad masculina se remontan a mediados de los años 70, cuando Tiepolo y Zuffardi (1976), a través de análisis citogenéticos, detectaron la presencia de deleciones en la región Yq11 de pacientes con azoospermia. Con estos datos postularon la existencia de una zona en el Cr Y que abarcaría un gen relacionado con la fertilidad, y se le denominó factor de azoospermia (*Azoospermia Factor* [AZF]). Sin embargo, su existencia no se demostró definitivamente hasta que en 1996, Vogt et al., observaron la presencia de microdeleciones en 3 regiones diferentes, con influencia en la esterilidad masculina, a las que denominaron AZFa, AZFb y AZFc (Vogt et al., 1996), conocidas asimismo en la actualidad como AZFa, P5/P1 proximal y b2/b4, respectivamente. Posteriormente se propuso una cuarta región en

la que se podían presentar dichas deleciones, denominada AZFd, si bien su existencia ha sido recientemente cuestionada (Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007; Krausz et al., 2014). Cada una de estas regiones alberga una o más copias de genes de hasta 15 familias diferentes, como el gen *Dead Box Y* (DBY) localizado en la región AZFa, el *RNA Binding Motif Y-Linked* (RBM1) en la AZFb, o el *Deleted in Azoospermia* (DAZ) en la AZFc, entre otros, que resultan ser esenciales para el correcto desarrollo de la espermatogénesis. No obstante, se ha propuesto que el efecto de la microdeleción en la alteración de la espermatogénesis podría depender además de la activación de otros genes o copias del gen no eliminadas, así como del haplotipo de Cr Y del que se trate (Li et al., 2008; Vogt, 2005).

Mecanismos que originan las microdeleciones en el cromosoma Y

Hoy en día se dispone del mapa genético completo del Cr Y, lo que ha permitido proponer que el mecanismo por el que se originan las microdeleciones *de novo* es por recombinación homóloga entre secuencias muy similares o idénticas dentro del Cr Y. Dicha mutación podría suceder bien durante la meiosis de la línea germinal del padre fértil (sin deleción en las células somáticas), o durante las primeras divisiones poscigóticas del paciente infértil (con deleción), en cuyo caso presentaría mosaicismo para dicha anomalía. Además, gracias a las técnicas de secuenciación se han determinado los puntos de ruptura de las deleciones, logrando identificar y nombrar, además de las microdeleciones «clásicas» o completas de dichas regiones, otras dentro y fuera de los intervalos clásicos de deleción. Es el caso de las microdeleciones parciales, como las de la región AZFc (gr/gr, b2/b3 y b1/b3), o las que comprenden varias de las regiones, como las AZFbc (P5/P1 o P4/P1 distal) (Suganthi et al., 2014; Ferlin et al., 2007). En cualquier caso, todas las deleciones mencionadas suponen la eliminación de una o más copias de genes candidatos de la espermatogénesis, lo que en ciertos casos ha sugerido el análisis de la eficiencia de dicho proceso según la cantidad de genes excluidos por la deleción (Krausz et al., 2009).

Técnicas de análisis de microdeleciones en el cromosoma Y

Para su detección se emplean técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* [PCR]) con ADN genómico procedente de linfocitos y diferentes marcadores frente a secuencias cortas de nucleótidos no repetidos, conocidas en inglés como *Sequence-Tagged Site* (STS), que pueden ser específicas para un gen o familia de genes, o simplemente detectar secuencias «anónimas» (Suganthi et al., 2014; Foresta et al., 2001b). Aunque los análisis iniciales se realizaban con un número reducido de marcadores anónimos, la obtención del mapa preciso del Cr Y permitió seleccionar marcadores más específicos y desarrollar unas directrices para su diagnóstico molecular, que han permitido conseguir pruebas más fiables y homogéneas entre los diferentes laboratorios (Foresta et al., 2001b; Krausz et al., 2014). En los últimos años diversos autores han

sugerido el empleo de nuevos protocolos de PCR múltiple (Guo et al., 2012; Vogt y Bender, 2013), e incluso de nuevas técnicas diagnósticas más específicas y sensibles basadas en la PCR cuantitativa o la tecnología de *arrays* que podrían sustituir la empleada de rutina (Suganthi et al., 2014; Guo et al., 2012; Song et al., 2012).

Prevalencia de las microdeleciones del cromosoma Y

Desde su detección molecular, en los años 90, numerosos autores han profundizado en el estudio de las microdeleciones, considerándose en la actualidad la anomalía cromosómica más frecuente asociada al fallo en la producción espermática, y una de las causas más comunes de la infertilidad masculina. Sin embargo, al revisar la bibliografía, la frecuencia con la que se encuentran estas microdeleciones en pacientes infértiles varía tremendamente entre los diferentes estudios, oscilando entre el 1% y el 55% (Suganthi et al., 2014; van der Ven et al., 1997; Oliva et al., 1998; McElreavey y Krausz, 1999; Foresta et al., 2001a; Martínez et al., 2000; Pryor et al., 1997), probablemente debido a variaciones en el diseño de los mismos, como el número de pacientes analizados o su criterio de selección (McElreavey y Krausz, 1999). Así, aunque la mayoría de los estudios se centra en pacientes con azoospermia y oligozoospermia severa (con $< 5 \times 10^6$ espermatozoides/ml) otros incluyen todos los pacientes infértiles con causa conocida o desconocida de infertilidad. Tras una profunda revisión de 4.800 casos, Foresta et al. (2001b) demostraron que la incidencia de las deleciones aumenta cuando el criterio de selección de la población es más estricto, encontrando los mayores porcentajes en pacientes con azoospermia no obstructiva y oligozoospermia idiopáticas con recuento $< 5 \times 10^6$ espermatozoides/ml (18% y 14%, respectivamente) mientras que si se trata de infertilidad de origen desconocido con $> 5 \times 10^6$ espermatozoides/ml la frecuencia cae al 0,7% (Foresta et al., 2001b). Otra variable que parece afectar a la diferencia entre las frecuencias observadas en los distintos estudios es el empleo de diferentes marcadores STS para la determinación de las microdeleciones (Suganthi et al., 2014; Martínez-Frias, 2005; McElreavey y Krausz, 1999). No obstante, también se ha sugerido que dichas diferencias podrían deberse a otros factores no relacionados con el diseño del estudio, como diferencias estrictamente étnicas o geográficas, relacionadas con un haplotipo particular del Cr Y, el factor genético o la influencia ambiental (McElreavey y Krausz, 1999). En particular, los estudios realizados con la población que acude a clínicas de fertilidad en España muestran una prevalencia que oscila entre el 3,3% y el 7% (Oliva et al., 1998; Martínez et al., 2000; Lo Giacco et al., 2014), lo que supone una incidencia ligeramente mayor a la encontrada en población alemana, con valores seminales análogos, y casi idéntica, al menos para pacientes con azoospermia, a la de la población italiana, reforzando el posible efecto de la composición étnica sobre la prevalencia de la delección (Lo Giacco et al., 2014). Quizá por ello en los últimos años han surgido numerosos estudios sobre la incidencia de estas anomalías en poblaciones de diferentes zonas geográficas aún no analizadas, como en el Oriente Medio o en países de Asia (Alhalabi et al., 2013;

Khabour et al., 2014; Zhang et al., 2013; Suganthi et al., 2014; Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007).

En cualquier caso, los autores coinciden en que las deleciones se dan con más frecuencia en los casos de azoospermia no obstructiva (en el 8-20% de dichos pacientes) que en los de oligozoospermia severa (en el 4-14%) o moderada (Foresta et al., 2001a; Suganthi et al., 2014), lo que sugiere que las deleciones ocasionan mayoritariamente daños severos de la producción espermática, si bien se pueden encontrar con cierta asiduidad espermatozoides, al menos en los testículos. Otro patrón común en toda la bibliografía es que las microdeleciones más frecuentes afectan a la región AZFc (54-72%), siendo especialmente significativa la delección parcial gr/gr en la población española (Lo Giacco et al., 2014; De Llanos et al., 2005), mientras que son poco comunes las que afectan a la región AZFa y AZFb, o comprenden a varias (AZFbc) o todas las regiones AZF (AZFabc) (Hopps et al., 2003; Foresta et al., 2001b; Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007; Ferlin et al., 2007; Patrat et al., 2010; Krausz et al., 2014).

Correlación entre genotipo y fenotipo del paciente con microdeleciones

Aunque toda la comunidad científica considera que las deleciones más largas se asocian generalmente con defectos más graves de la espermatogénesis, no existe un acuerdo sobre la asociación entre la región afectada por una microdelección, bien sea completa o parcial, y los parámetros seminales o el fenotipo testicular del paciente infértil, y por tanto, sobre el valor pronóstico de su determinación. Así, mientras que, en un principio, las deleciones de las regiones AZFa, AZFb y AZFc se asociaron a pacientes con SCOS, detención de la espermatogénesis o fenotipo variable, respectivamente (Vogt et al., 1996), pronto se observó la necesidad de precisar la extensión y posición de las deleciones, e incluso de caracterizar los genes eliminados y usar STS específicos para dichos genes, con el fin de poder pronosticar la presencia o no de espermatozoides en los testículos o el eyaculado (Foresta et al., 2001a; Krausz et al., 2000; Liow et al., 2001). En general, los estudios que relacionan fenotipo con genotipo muestran que las deleciones de las regiones AZFa y AZFb causan azoospermia sin posibilidad de recuperar espermatozoides en la biopsia, siempre que se trate de la delección completa de las mismas, y se asocian fundamentalmente a SCOS y detención de la maduración, respectivamente (Suganthi et al., 2014; Ferlin et al., 2007; Patrat et al., 2010; Choi et al., 2004). Sin embargo, si la delección en esas regiones es parcial puede ocasionar una escasa producción de espermatozoides (hipoespermatogénesis), tal como demuestran la presencia de dichas deleciones parciales en pacientes con oligozoospermia (Suganthi et al., 2014; McElreavey y Krausz, 1999; Ferlin et al., 2007; Krausz et al., 2000) o los casos de transmisión natural de las mismas a la descendencia (Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007). Por su parte, los pacientes con deleciones AZFbc o AZFabc presentan un daño severo en la espermatogénesis y ausencia de espermatozoides en eyaculado o testículos (Foresta et al., 2001a; Patrat et al., 2010; Choi et al., 2004). En contra, un par de estudios recientes muestran 2 casos excepcionales de pacientes con oligozoospermia severa y delección completa

de AZFb o AZFbc en la que se completó la espermatogénesis, si bien en el primer caso se requirió la extracción de múltiples biopsias testiculares para conseguir algún espermatozoide móvil, mientras que un posterior seminograma del segundo caso revelaba azoospermia (Soares et al., 2012; Longepied et al., 2010). La delección completa o parcial de AZFc se asocia, por el contrario, a una variedad de parámetros seminales (aproximadamente 50% de azoospermia y 50% de oligozoospermia severa) e histologías testiculares (desde hipoespermatoogénesis a SCOS), pero en la mayoría de los casos disponen de espermatozoides maduros en el eyaculado o en los testículos (Suganthi et al., 2014; Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007; McElreavey y Krausz, 1999; Foresta et al., 2001a; Ferlin et al., 2007; Patrat et al., 2010). Un caso de especial interés clínico lo constituye la delección gr/gr, en la que se elimina la mitad de los genes de la región AZFc (Repping et al., 2003). Aunque está igualmente asociada a un fenotipo heterogéneo, este oscila entre en varones fértiles con normozoospermia e infértiles con azoospermia, pero solo predispone a fallo de la espermatogénesis en algunas poblaciones como la española o la italiana, sin encontrar dicho efecto negativo en otras, como la japonesa o la china (Krausz et al., 2014; Krausz et al., 2009; Krausz, 2005; Repping et al., 2003). En la actualidad aún se debate sobre el origen de las diferencias encontradas entre portadores de la delección gr/gr pero, a pesar de que no parece afectar a los resultados reproductivos tras ICSI (De Llanos et al., 2005), las últimas recomendaciones internacionales aconsejan su análisis rutinario en las poblaciones en las que, como la española, se considera un importante factor de riesgo para la deficiente producción espermática (Krausz et al., 2014; Lo Giacco et al., 2014).

Además de la distinta región o extensión de la delección, se ha sugerido que la variabilidad en el fenotipo de los pacientes que presentan las AZFc, y en particular las gr/gr, bien podría deberse a factores genéticos, como los diferentes haplotipos del Cr Y, la presencia en ese u otros cromosomas de genes iguales u homólogos a los eliminados, e incluso a la pérdida progresiva de la producción espermática con el tiempo, detectada en ciertos pacientes (Foresta et al., 2001b; Longepied et al., 2010; Liu et al., 2013; Simoni et al., 1997; Krausz et al., 2014). La detección precoz de la microdelección en estos casos puede resultar crucial en el tratamiento clínico de dichos pacientes, ya que la criopreservación seminal mientras dispongan de espermatozoides en el eyaculado puede evitar el empleo de métodos más invasivos con posterioridad (Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007).

Aunque la presencia de microdeleciones se ha relacionado con una reducción en el tamaño testicular, o con variaciones en los niveles de algunas hormonas (en concreto de la FSH), por el momento ningún dato obtenido a través de la historia clínica, examen físico o analítico permite identificar *a priori* a los pacientes que presentan microdeleciones (Foresta et al., 2001a, 2001b; Ferlin et al., 2007; Patrat et al., 2010). Por ello, la mayoría de los autores sostienen la necesidad de analizar las microdeleciones en pacientes infértiles con escaso número de espermatozoides, independientemente de la presencia simultánea de otras causas de daño testicular, con el objetivo de realizar el tratamiento más adecuado en cada caso.

Opciones reproductivas en pacientes con microdeleciones

Hasta hace unas décadas las parejas infértiles cuyo varón presentaba un fallo acusado de la espermatogénesis, que cursaba con azoospermia u oligozoospermia severa, no tenían otra opción que recurrir a la donación de semen para ser padres, ya que no existe ninguna terapia clínica que permita corregir dichas anomalías (Silber, 2011). La introducción de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (*Intracytoplasmic Sperm Injection* [ICSI]) entre las técnicas de reproducción asistida (TRA) combinado, en el caso de pacientes azoospermicos, con las técnicas de recuperación espermática de testículo (*Testicular Sperm Extraction* [TESE]) o epidídimo (*Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration* [MESA]), ofreció a esos pacientes nuevas posibilidades para concebir hijos con sus propios gametos, pues para ello tan solo se requiere un pequeño número de espermatozoides móviles. Puesto que, como ya hemos mencionado, en un gran número de pacientes con microdeleciones es posible recuperar espermatozoides de semen o testículo, la ICSI o TESE+ICSI suelen ser tratamientos habituales para estos casos. Sin embargo, dado que dichas técnicas evitan la selección natural del espermatozoide, cabe la posibilidad de que los espermatozoides empleados en el proceso sean de peor calidad y, por ello, menos competentes para el desarrollo de sus funciones durante la fecundación o en los primeros estadios del desarrollo embrionario, conduciendo a peores resultados clínicos.

Desde que, a finales de los 90, Mulhall et al. (1997) lograron mediante TESE+ICSI el primer embarazo y posterior nacimiento de un hijo de un paciente azoospermico con delección en la región AZFc (Mulhall et al., 1997), tan solo unos pocos estudios han analizado cómo la microdelección puede afectar a los resultados clínicos tras ICSI, publicando conclusiones controvertidas (tabla 1). Mientras algunos autores observaron similares resultados en pacientes con microdeleciones que en aquellos con el Cr Y intacto (Choi et al., 2004; Mulhall et al., 1997; Wu et al., 2011; Peterlin et al., 2002; Oates et al., 2002), otros encontraron diferencias significativas entre ellos. En concreto, cuando la ICSI se realizaba con espermatozoides con la mutación, las tasas de fecundación resultaron ser inferiores y obtuvieron embriones de peor calidad (Liu et al., 2013; van Golde et al., 2001). Este último dato no fue confirmado por otros autores que consideran que, una vez fecundado, la presencia de la microdelección en el espermatozoide no afecta al desarrollo embrionario (Liu et al., 2013; Wu et al., 2011) aunque, en nuestra experiencia, la tasa de llegada a blastocisto sí resulta inferior (Mateu et al., 2010). Por lo demás, los estudios realizados hasta la fecha muestran tasas de gestación clínica, de implantación y de recién nacidos vivos similares cuando se comparan los resultados clínicos de pacientes infértiles con microdeleciones respecto de los controles sin ellas (Choi et al., 2004; Liu et al., 2013; Mulhall et al., 1997; Wu et al., 2011; van Golde et al., 2001), o a los obtenidos habitualmente en pacientes fértiles o infértiles en cada centro (Patrat et al., 2010; Oates et al., 2002; Kihale et al., 2004; Stouffs et al., 2005), si bien en muchos casos no comparan las tasas de aborto o el número de embriones transferidos. Tan solo un estudio prospectivo evalúa la

Tabla 1 Resultados clínicos tras ciclos de ICSI en parejas con microdeleciones del cromosoma Y

Estudio	N.º parejas	ciclos ICSI	TF (n _{2PN} /n _{MII})	TGC/ciclo (n _{gestación})	TGT/ciclo (n _{partos})	RNV	Controles	Observaciones
Mulhall et al., 1997	3	6	35,7 (15/42)	16,6 (1)	16,6 (1)	2	Azoospermia no obstructiva sin microdeleción	Primer embarazo a término en pacientes azoospermicos con microdeleción en AZFc TF y desarrollo embrionario similar al control
van Golde et al., 2001	8	19	55 (-)	15,8 (3)	15,8 (3)	5	Infértil sin microdeleción ^a	Peor capacidad fecundante (TF) de espermatozoides con la microdeleción AZFc y peor desarrollo embrionario pero no afecta a la TGC
Oates et al., 2002	26	48	47,6 (273/573)	27,1 (13)	27,1 (13)	18	-	La presencia de microdeleción en AZFc no afecta a los resultados clínicos tras ICSI
Peterlin et al., 2002	3	7	49 (-)	42,8 (3)	28,6 (2)	2	Fértiles sin microdeleción	TF y TGC en pacientes con microdeleción AZFc similares a los publicados por el grupo para FIV convencional. Embriones de buena calidad
Choi et al., 2004	17	27	48,6 (122/251)	33,3 (9)	25,9 (7)	7	Infértil sin microdeleción ^a	Tendencia no significativa a menor TF en pacientes con microdeleción, pero TGC similar.
Kihaile et al., 2004	4	8	59 (64/108)	37,5 (3)	-	-	-	TF, TGC, TB en pacientes con microdeleción comparables a los publicados por FIV convencional. Embriones de buena calidad
Stouffs et al., 2005	16	40	55 (209/379)	17,5 (7)	7,5 (3 ^b)	3	-	Resultados comparables a los obtenidos con pacientes infértiles en su centro. Solo es posible ofrecer ICSI a pacientes con microdeleción en AZFc
Patrat et al., 2010	23	42	53 (104/287)	30,9 (14)	19,1 (8 ^b)	14	-	Buenos resultados clínicos (TF, TGC y calidad embrionaria) comparables a los publicados. Solo es posible ofrecer ICSI a pacientes con deleción en AZFc
Mateu et al., 2010	6	8	61,5 (56/91)	37,5 (3)	37,5 (3)	3	Infértil sin microdeleción ^a	TF y TGC similares al control, pero menor TB en los pacientes con microdeleción
Wu et al., 2011	48	56	69 (-)	37,5 (21)	35,7 (20)	24	Infértil sin microdeleción ^a	La presencia de microdeleción no afecta a los resultados clínicos tras ICSI
Liu et al., 2013 ^c	143	143	61,8 (1133/1834) ^c	32,7 (36) ^c	26,4 (29) ^c	35	Oligozoospermia sin microdeleción	Peor capacidad fecundante (TF) de espermatozoides con la microdeleción, pero no afecta al desarrollo embrionario ni al resto de resultados clínicos

RNV: recién nacidos vivos; TB: tasa de blastocistos; TF: tasa de fecundación (%); TGC: tasa de gestación clínica (%); TGT: tasas de gestación a término (%).

^a Infertilidad diagnosticada con azoospermia no obstructiva u oligozoospermia severa.

^b Embarazos en curso: 2 en Stouffs et al., 2005 y uno en Patrat et al., 2010.

^c Los resultados de TF, TGC y TGT se muestran por embrión transferido en Liu et al., 2013.

eficacia de la ICSI en pacientes con microdeleciones, pero emplean para ello un número muy reducido de pacientes y no muestran datos de pacientes control sin microdeleciones (Kihaila et al., 2004). Se requieren, por tanto, más estudios para llegar a resultados concluyentes a este respecto.

Transmisión de las microdeleciones del cromosoma Y a la descendencia

Independientemente de su eficiencia, una de las cuestiones que más preocupa a la comunidad científica respecto del empleo de ICSI para el tratamiento de la infertilidad de estos pacientes es si su descendencia puede tener mayor riesgo de transmisión de alguna anomalía genética. En este sentido, ya es un hecho probado en la bibliografía que, si bien la mayoría de las deleciones son *de novo* (Foresta et al., 2001b; Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007), dichas deleciones se transmiten tanto de manera natural, cuando ello es posible, como a través de ICSI a la descendencia masculina, heredando con ello los problemas de fertilidad (Oates et al., 2002; Cram et al., 2000; Lee et al., 2006). En este último caso es importante precisar que la técnica de ICSI en sí misma no induce la aparición *de novo* de microdeleciones, como se deduce de la nula presencia de las mismas en niños de varones sin microdelección concebidos mediante dicha técnica en centros españoles o extranjeros (Cram et al., 2000; Buch et al., 2004). Con respecto a la transmisión de la alteración y la infertilidad asociada, aunque en raras ocasiones, se han detectado algunos casos en los que se produce una expansión de la microdelección en la descendencia (Foresta et al., 2001b; Sadeghi-Nejad y Farrokhi, 2007; Lee et al., 2006), con el consiguiente posible empeoramiento de sus efectos. De cualquier modo, aunque padre e hijo portaran una deleción de igual tamaño, tan solo podremos asumir que ambos presentarán una alteración de la espermatogénesis, pero nunca podremos predecir la severidad de la infertilidad en los varones de la descendencia, dado que, como ya hemos mencionado, existen otros factores que pueden conducir a un fenotipo distinto (Foresta et al., 2001b; Oates et al., 2002). En el mejor de los casos, aunque los hijos pudieran acudir igualmente a las TRA para solventar su infertilidad, lo cierto es que podría provocar un aumento significativo de varones infértiles en generaciones futuras (Silber, 2011; Foresta et al., 2001b).

Relación entre las microdeleciones del cromosoma Y y otras anomalías cromosómicas

Un hecho aún más inquietante es la posibilidad de transmitir a la descendencia otro tipo de anomalías cromosómicas que podrían estar asociadas a las microdeleciones, ocasionando daños más severos a los recién nacidos vivos (tabla 2). Con respecto a las anomalías cromosómicas podemos diferenciar entre las que implican a los cromosomas sexuales (Ferlin et al., 2007; Patrat et al., 2010; Stouffs et al., 2005; Siffroi et al., 2000; Patsalis et al., 2005; Patsalis et al., 2002; Mitra et al., 2006; Dos Santos et al., 2013) y las que implican a otros cromosomas (Perrin et al., 2006; Yogeve et al., 2004).

Por lo que concierne a las primeras, esto es, a las de cromosomas sexuales, son varios los indicios que sugieren su relación con la presencia de microdeleciones en el Cr Y. Así,

algunos autores han descrito una mayor incidencia de cariotipos anormales que involucran a los cromosomas sexuales en los pacientes infértiles con deleciones que en la población general (Patrat et al., 2010; Stouffs et al., 2005; Siffroi et al., 2000). Por su parte, Siffroi et al. (2000) propusieron que ciertas microdeleciones del Cr Y podrían provocar una inestabilidad general de dicho cromosoma que conduciría a la pérdida del mismo, contribuyendo así a la formación de algunas líneas celulares 45XO, detectadas especialmente en células germinales de dichos pacientes (Siffroi et al., 2000; Patsalis et al., 2005). De acuerdo con su hipótesis, diversos autores han encontrado una reducción significativa en el número de espermatozoides con Cr Y normal en pacientes con deleción respecto de los controles infértiles sin deleción o de los fértiles, así como un incremento en el porcentaje de espermatozoides nulisómicos para cromosomas sexuales (Ferlin et al., 2007; Siffroi et al., 2000) o con disomías XY (Ferlin et al., 2007; Mateu et al., 2010). Mientras que el aumento de espermatozoides nulisómicos, probablemente debido a la inestabilidad del Cr Y, incrementa el riesgo de que la descendencia de dichos pacientes presente además síndrome de Turner (45XO), la disomía XY en los espermatozoides indica que la microdelección podría interferir en el proceso de disyunción meiótica de los cromosomas sexuales, elevando el riesgo de que los pacientes que la poseen engendren hijos con síndrome de Klinefelter (47XXY) (Ferlin et al., 2007).

Además, recientemente se ha insinuado que los mecanismos responsables de la aparición de microdeleciones podrían ser más complejos de lo esperado y asociarse a otras aberraciones del Cr Y fuera de las regiones AZF (Jorgez et al., 2011). Así, Jorgez et al. observaron que, a diferencia de los varones fértiles o infértiles con Cr Y normal, el 10% de pacientes con alguna deleción presenta además anomalías génicas de las regiones teloméricas PAR, y con ello la posibilidad de transmitir a la descendencia otros defectos relacionados con los genes afectados en dichas regiones, como trastornos de la altura o ciertos trastornos mentales (Jorgez et al., 2011). En contra, en un estudio multicéntrico reciente no encontraron ninguna asociación con relevancia clínica entre las microdeleciones y dichos genes (Chianese et al., 2013).

Por otra parte, ciertos estudios sugieren que la presencia de microdeleciones podría afectar asimismo a la presencia de anomalías en cromosomas no sexuales. En concreto, mediante estudios de meiosis en espermatoцитos se ha comprobado que ciertas microdeleciones (en la región AZFb) parecen afectar a la sinapsis no solo del bivalente XY, sino también de los autosomas (Perrin et al., 2006; Yogeve et al., 2004), aunque los genes de otras regiones (AZFc) no parecen ser críticos para la recombinación meiótica (Geoffroy-Siraudin et al., 2007). Ello reitera la posibilidad de que la descendencia herede, junto con la deleción causante de su infertilidad, otras anomalías con peores consecuencias clínicas.

Por último, la presencia de otras anomalías cromosómicas asociadas a la microdelección en el Cr Y también podría implicar un bloqueo del desarrollo embrionario o mayor número de abortos. De acuerdo con esta teoría, estudios recientes de nuestro laboratorio demostraron una tasa de llegada a blastocisto significativamente menor en los embriones de estos pacientes (Mateu et al., 2010). De igual modo, 2 grupos

Tabla 2 Estudios de anomalías cromosómicas asociadas a las microdeleciones del cromosoma Y. Riesgo de la descendencia

Estudio	Tipo de muestra	Observaciones sobre anomalías cromosómicas en las muestras	Riesgo de la descendencia
Siffroi et al., 2000	Sangre periférica Espermatozoides	Inestabilidad del Cr Y y mosaicismo 45XO/46XY en pacientes con microdelección: - Mayor porcentaje de linfocitos 45XO en pacientes con delección - Mayor porcentaje de espermatozoides con nulisomía para cromosomas sexuales	Riesgo de síndrome de Turner-Ullrich u otras disgenesias gonadales por mosaicismo en cromosomas sexuales
Yogev et al., 2004	Biopsia testicular (espermatoцитos)	La delección de algunas regiones del AZFb o AZFbc puede afectar al alineamiento del bivalente XY durante la meiosis, causando fallo de la espermatogénesis	Riesgo de trastornos relacionados con anomalías en cromosomas sexuales
Patsalis et al., 2005	Sangre periférica	Inestabilidad del Cr Y: elevada incidencia de microdeleciones del Cr Y en pacientes con síndrome de Turner-Ullrich	Riesgo de síndrome de Turner-Ullrich u otras disgenesias gonadales
Perrin et al., 2006	Biopsia testicular (espermatoцитos)	La delección completa de AZFb no solo altera la sinapsis del bivalente XY, sino también la de los autosomas durante la meiosis	Riesgo de trastornos relacionados con anomalías en cualquier cromosoma
Ferlin et al., 2007	Espermatozoides	Menor porcentaje de espermatozoides con Cr Y normal en pacientes con delección AZFc: - Aumenta el porcentaje de espermatozoides con nulisomía de cromosomas sexuales - Aumenta el porcentaje de espermatozoides con disomía XY	Riesgo de síndrome de Turner (45,XO) Riesgo de síndrome Klinefelter (47,XXY)
Geoffroy-Siraudin et al., 2007	Biopsia testicular	La presencia de la región AZFc no es crítica para la correcta recombinación meiótica	
Mateu et al., 2010	Espermatozoides Embriones	- Aumento del porcentaje de espermatozoides con disomías para cromosomas sexuales y cromosomas 13, 18, 21 o diploides en pacientes con microdelección - Alto porcentaje de embriones con aneuploidías para los cromosomas analizados. Aumento significativo del porcentaje de embriones con monosomía X	Riesgo de síndrome de Turner-Ullrich y otros posibles trastornos asociados a anomalías en autosomas
Jorgez et al., 2011	Sangre periférica	Las microdeleciones pueden estar asociadas a otros defectos genéticos en la región PAR (haploinsuficiencia del gen SHOX) del Cr Y	Trastornos de la altura. Otros posibles trastornos relacionados con gen SHOX
Chianese et al., 2013	Sangre periférica	Las microdeleciones parecen no estar asociadas a haploinsuficiencia del gen SHOX en las regiones PAR del Cr Y	No hay riesgo de trastornos asociados a haploinsuficiencia del gen SHOX

Cr Y: cromosoma Y; gen SHOX: del inglés *short-stature-homeobox gene*; PAR: del inglés *pseudoautosomal region*.

de investigación diferentes revelaron recientemente una mayor frecuencia de microdeleciones en AZFc en parejas con aborto de repetición, sugiriendo que dicha región podría ser importante para el mantenimiento de la gestación (Dewan et al., 2006; Karaer et al., 2008), si bien estos

resultados no se confirmaron en estudios posteriores, en los que se empleaban un mayor número de STS más adecuadas para la detección de la mayoría de las delecciones conocidas clínicamente relevantes (Kaare et al., 2008; Bellver et al., 2010).

Es importante señalar que, a pesar de todos estos datos, por el momento no se ha publicado ningún caso de descendencia con malformaciones de los genitales y, excepto un caso con síndrome de corazón izquierdo hipoplásico y atresia pulmonar, de etiología probablemente independiente a la microdelección (Page et al., 1999), todos los niños nacidos de pacientes con alguna microdelección son clínicamente sanos. No obstante, debemos reparar en que gran parte de esos niños, mayoritariamente obtenidos por ICSI, todavía no han alcanzado la pubertad. Igualmente, no se dispone de suficiente información sobre la incidencia de abortos espontáneos en las parejas de dichos pacientes.

Por todo ello, de acuerdo con las últimas directrices de la *European Academy of Andrology* (EAA) y de la *European Molecular Genetics Quality Network* (EMQN) se está insistiendo en recomendar el cribado de las microdeleciones a los pacientes con azoospermia no obstructiva u oligozoospermia severa ($< 5 \times 10^6$ espermatozoides/ml) y ofrecer asesoramiento genético, antes de realizar FIV o ICSI, a aquellas parejas cuyo varón las presente (Krausz et al., 2014). Sin embargo, por el momento, no es una recomendación aplicada en la práctica clínica en muchos centros de reproducción asistida de España.

A pesar de los riesgos ya descritos, hoy día la ICSI sigue siendo la estrategia terapéutica elegida por la mayoría de las parejas que presentan estas anomalías y no consiguen embarazo de manera natural, siempre que se logre recuperar espermatozoides (Patrat et al., 2010; Oates et al., 2002), lo que sucede aproximadamente en la mitad de los casos que acuden a dicha técnica de fecundación, aunque se trata mayoritariamente de pacientes con microdeleciones en AZFc (Stouffs et al., 2005).

En esos casos, con el objetivo de evitar la posible aparición de otras anomalías potenciales en la descendencia, tales como las aneuploidías, sería preciso realizar un estudio genético preimplantacional (*Preimplantation Genetic Screening* [PGS]) para seleccionar embriones sin aneuploidías para la transferencia, consiguiendo asimismo reducir las tasas de aborto y mejorar los resultados reproductivos. Las nuevas aproximaciones al PGS desarrolladas en los últimos años, como los arrays basados en la hibridación genómica comparada (*Comparative Genomic Hybridization*), permiten evaluar todos los cromosomas del embrión, y ha permitido detectar alteraciones numéricas en otros cromosomas no observados previamente por hibridación fluorescente *in situ* (*Fluorescent In Situ Hybridization* [FISH]). De este modo, recientemente hemos ratificado la necesidad de realizar PGS en embriones de parejas con factor masculino severo ($< 2 \times 10^6$ espermatozoides/ml), dado que con ello se descartan embriones anómalos y se incrementan las tasas de gestación evolutiva, reduciendo al mínimo la incidencia de abortos (Rubio et al., 2014). Queda pendiente, sin embargo, comprobar los riesgos reales de transmisión de anomalías diferentes a la microdelección en la descendencia de aquellos que la poseen, y verificar si el PGS debería ser aconsejado a parejas cuyo varón presente microdeleciones, que acuden a ICSI para ser padres, empleando sus propios gametos.

En este sentido, estudios retrospectivos de nuestro laboratorio han demostrado que, a diferencia de los controles sin microdelección, los pacientes que las presentan no solo poseen mayor porcentaje de espermatozoides con disomías

sexuales, sino también de los cromosomas 13, 18 y 21 o de espermatozoides diploides (Mateu et al., 2010). Es posible que dichas disomías también se presentaran en otros cromosomas no analizados mediante FISH. Paralelamente, el PGS evidenció una alta incidencia de embriones cromosómicamente anormales (monosomía X) procedentes de pacientes con la delección y FISH de espermatozoides anormal (Mateu et al., 2010), que resultó ser significativa respecto a la de los controles sin delección, a pesar de no contar con un número muy amplio de muestras ni analizar los 23 pares cromosómicos.

Hasta el momento son pocos los pacientes con microdeleciones cuyos embriones se hayan sometido a PGS. En muchos casos, a pesar de las recomendaciones, ni siquiera se ha analizado la presencia de dicha anomalía en el varón. Sin embargo, si se confirman los riesgos genéticos de la descendencia de estos pacientes, sería particularmente necesario incluir como rutina clínica la evaluación de microdeleciones en varones infértiles que acuden a las TRA para solventar sus problemas de fertilidad, y recomendar PGS como una alternativa terapéutica adecuada para aquellos que las presenten. No obstante, teniendo en cuenta que los hijos varones sufrirían el mismo problema de infertilidad que sus padres y que la selección de sexo está prohibida en muchos países como España, la inseminación con semen de donante resulta también una alternativa reproductiva para estos pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Alhalabi, M., Kenj, M., Monem, F., Mahayri, Z., Abou Alchamat, G., Madania, A., 2013. High prevalence of genetic abnormalities in Middle Eastern patients with idiopathic non-obstructive azoospermia. *J Assist Reprod Genet* 30, 799–805.
- Bellver, J., Meseguer, M., Muriel, L., García-Herrero, S., Barreto, M.A., Garda, A.L., et al., 2010. Y chromosome microdeletions, sperm DNA fragmentation and sperm oxidative stress as causes of recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. *Hum Reprod* 25, 1713–1721.
- Buch, B., Galan, J.J., Lara, M., Real, L.M., Martínez-Moya, M., Ruiz, A., 2004. Absence of de novo Y-chromosome microdeletions in male children conceived through intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 82, 1679–1680.
- Chianese, C., Lo Giacco, D., Tuttelmann, F., Ferlin, A., Ntostis, P., Vinci, S., et al., 2013. Y-chromosome microdeletions are not associated with SHOX haploinsufficiency. *Hum Reprod* 28, 3155–3160.
- Choi, J.M., Chung, P., Veeck, L., Mielnik, A., Palermo, G.D., Schlegel, P.N., 2004. AZF microdeletions of the Y chromosome and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 81, 337–341.
- Cram, D.S., Ma, K., Bhasin, S., Arias, J., Pandjaitan, M., Chu, B., et al., 2000. 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* 74, 909–915.
- De Llanos, M., Balleca, J.L., Gazquez, C., Margarit, E., Oliva, R., 2005. High frequency of gr/gr chromosome Y deletions in consecutive oligospermic ICSI candidates. *Hum Reprod* 20, 216–220.

- Dewan, S., Puscheck, E.E., Coulam, C.B., Wilcox, A.J., Jeyendran, R.S., 2006. Y-chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 85, 441–445.
- Dohle, G.R., Halley, D.J., van Hemel, J.O., van den Ouwel, A.M., Pieters, M.H., Weber, R.F., et al., 2002. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Hum Reprod* 17, 13–16.
- Dos Santos, A.P., Andrade, J.G., Piveta, C.S., de Paulo, J., Guerra Jr., G., de Mello, M.P., et al., 2013. Screening of Y chromosome microdeletions in 46,XY partial gonadal dysgenesis and in patients with a 45,X/46,XY karyotype or its variants. *BMC Med Genet* 14, 115–125.
- Ferlin, A., Arredi, B., Speltra, E., Cazzadore, C., Selice, R., Garolla, A., et al., 2007. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: A 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab* 92, 762–770.
- Foresta, C., Moro, E., Ferlin, A., 2001a. Prognostic value of Y deletion analysis. The role of current methods. *Hum Reprod* 16, 1543–1547.
- Foresta, C., Moro, E., Ferlin, A., 2001b. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 22, 226–239.
- Geoffroy-Siraudin, C., Aknin-Seiffer, I., Metzler-Guillemain, C., Ghalamoun-Slaïmi, R., Bonzi, M.F., Levy, R., et al., 2007. Meiotic abnormalities in patients bearing complete AZFc deletion of Y chromosome. *Hum Reprod* 22, 1567–1572.
- Guo, Q., Lan, F., Xu, L., Jiang, Y., Xiao, L., Huang, H., et al., 2012. Quadruplex real-time polymerase chain reaction assay for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *Fertil Steril* 97, 864–869.
- Hopps, C.V., Mielnik, A., Goldstein, M., Palermo, G.D., Rosenwaks, Z., Schlegel, P.N., 2003. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod* 18, 1660–1665.
- Jorgez, C.J., Weedon, J.W., Sahin, A., Tannour-Louet, M., Han, S., Bournat, J.C., et al., 2011. Aberrations in pseudoautosomal regions (PARs) found in infertile men with Y-chromosome microdeletions. *J Clin Endocrinol Metab* 96, E674–E679.
- Kaare, M., Painter, J.N., Ulander, V.M., Kaaja, R., Aittomäki, K., 2008. Sex chromosome characteristics and recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 90, 2328–2333.
- Karaer, A., Karaer, K., Ozaksit, G., Ceylaner, S., Percin, E.F., 2008. Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol* 199, 662.e1–662.e5.
- Khabour, O.F., Fararjeh, A.S., Alfaouri, A.A., 2014. Genetic screening for AZF Y chromosome microdeletions in Jordanian azoospermic infertile men. *Int J Mol Epidemiol Genet* 5, 47–50.
- Kihaila, P.E., Kisanga, R.E., Aoki, K., Kumasako, Y., Misumi, J., Utsunomiya, T., 2004. Embryo outcome in Y-chromosome microdeleted infertile males after ICSI. *Mol Reprod Dev* 68, 176–181.
- Krausz, C., 2005. Y chromosome and male infertility. *Andrologia* 37, 219–223.
- Krausz, C., Giachini, C., Xue, Y., O'Bryan, M.K., Gromoll, J., Rajpert-de Meyts, E., et al., 2009. Phenotypic variation within European carriers of the Y-chromosomal gr/gr deletion is independent of Y-chromosomal background. *J Med Genet* 46, 21–31.
- Krausz, C., Hoefsloot, L., Simoni, M., Tüttelmann, F., 2014. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: State-of-the-art 2013. *Andrology* 2, 5–19.
- Krausz, C., Quintana-Murci, L., McElreavey, K., 2000. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? *Hum Reprod* 15, 1431–1434.
- Lee, S.H., Ahn, S.Y., Lee, K.W., Kwack, K., Jun, H.S., Cha, K.Y., 2006. Intracytoplasmic sperm injection may lead to vertical transmission, expansion, and de novo occurrence of Y-chromosome microdeletions in male fetuses. *Fertil Steril* 85, 1512–1515.
- Li, Z., Haines, C.J., Han, Y., 2008. Micro-deletions of the human Y chromosome and their relationship with male infertility. *J Genet Genomics* 35, 193–199.
- Liow, S.L., Yong, E.L., Ng, S.C., 2001. Prognostic value of Y deletion analysis: How reliable is the outcome of Y deletion analysis in providing a sound prognosis? *Hum Reprod* 16, 9–12.
- Liu, X.H., Qiao, J., Li, R., Yan, L.Y., Chen, L.X., 2013. Y chromosome AZFc microdeletion may not affect the outcomes of ICSI for infertile males with fresh ejaculated sperm. *J Assist Reprod Genet* 30, 813–819.
- Lo Giacco, D., Chianese, C., Sanchez-Curbelo, J., Bassas, L., Ruiz, P., Rajmil, O., et al., 2014. Clinical relevance of Y-linked CNV screening in male infertility: new insights based on the 8-year experience of a diagnostic genetic laboratory. *Eur J Hum Genet* 22, 754–761.
- Longepied, G., Saut, N., Aknin-Seifer, I., Levy, R., Frances, A.M., Metzler-Guillemain, C., et al., 2010. Complete deletion of the AZFb interval from the Y chromosome in an oligozoospermic man. *Hum Reprod* 25, 2655–2663.
- Martinez, M.C., Bernabe, M.J., Gomez, E., Ballesteros, A., Landeiras, J., Glover, G., et al., 2000. Screening for AZF deletion in a large series of severely impaired spermatogenesis patients. *J Androl* 21, 651–655.
- Martinez-Frias, M.L., 2005. Men infertility and microdeletions of Y chromosome. *Med Clin (Barc)* 125, 736–739.
- Mateu, E., Rodrigo, L., Martinez, M.C., Peinado, V., Milan, M., Gil-Salom, M., et al., 2010. Aneuploidies in embryos and spermatozoa from patients with Y chromosome microdeletions. *Fertil Steril* 94, 2874–2877.
- McElreavey, K., Krausz, C., 1999. Sex Chromosome Genetics '99. Male infertility and the Y chromosome. *Am J Hum Genet* 64, 928–933.
- Mitra, A., Dada, R., Kumar, R., Gupta, N.P., Kucheria, K., Gupta, S.K., 2006. Y chromosome microdeletions in azoospermic patients with Klinefelter's syndrome. *Asian J Androl* 8, 81–88.
- Mulhall, J.P., Reijo, R., Alagappan, R., Brown, L., Page, D., Carson, R., et al., 1997. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: Fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 12, 503–508.
- Oates, R.D., Silber, S., Brown, L.G., Page, D.C., 2002. Clinical characterization of 42 oligospermic or azoospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum Reprod* 17, 2813–2824.
- Oliva, R., Margarit, E., Balleasca, J.L., Carrio, A., Sanchez, A., Mila, M., et al., 1998. Prevalence of Y chromosome microdeletions in oligospermic and azoospermic candidates for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 70, 506–510.
- Page, D.C., Silber, S., Brown, L.G., 1999. Men with infertility caused by AZFc deletion can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum Reprod* 14, 1722–1726.
- Patrat, C., Bienvu, T., Janny, L., Faure, A.K., Fauque, P., Aknin-Seifer, I., et al., 2010. Clinical data and parenthood of 63 infertile and Y-microdeleted men. *Fertil Steril* 93, 822–832.
- Patsalis, P.C., Sismani, C., Quintana-Murci, L., Taleb-Bekkouché, F., Krausz, C., McElreavey, K., 2002. Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet* 360, 1222–1224.
- Patsalis, P.C., Skordis, N., Sismani, C., Kousoulidou, L., Koumbaris, G., Eftychi, C., et al., 2005. Identification of high frequency of Y chromosome deletions in patients with sex chromosome mosaicism and correlation with the clinical phenotype and Y-chromosome instability. *Am J Med Genet A* 135, 145–149.
- Perrin, J., Metzler-Guillemain, C., Karsenty, G., Grillo, J.M., Mitchell, M.J., Guichaoua, M.R., 2006. Meiotic arrest at the

- midpachytene stage in a patient with complete azoospermia factor b deletion of the Y chromosome. *Fertil Steril* 85, 494.e5–494.e8.
- Peterlin, B., Kunej, T., Sinkovec, J., Gligorievska, N., Zorn, B., 2002. Screening for Y chromosome microdeletions in 226 Slovenian subfertile men. *Hum Reprod* 17, 17–24.
- Pryor, J.L., Kent-First, M., Muallem, A., Van Bergen, A.H., Nolten, W.E., Meisner, L., et al., 1997. Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N Engl J Med* 336, 534–539.
- Repping, S., Skaletsky, H., Brown, L., van Daalen, S.K., Korver, C.M., Pyntikova, T., et al., 2003. Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome persists through balance between recurrent mutation and haploid selection. *Nat. Genet* 35, 247–251.
- Rubio, C., Castillón, G., Rodrigo, L., Bellver, J., Guillen, A., Remohí, J., et al., 2014. Improvement of clinical outcome in severe male factor infertility with embryo selection based on array-CGH: a randomized controlled trial. *Fertil Steril*. (Supplement), e24–e25.
- Sadeghi-Nejad, H., Farrokhi, F., 2007. Genetics of azoospermia: Current knowledge, clinical implications, and future directions. Part II: Y chromosome microdeletions. *Urol J* 4, 192–206.
- Siffroi, J.P., Le Bourhis, C., Krausz, C., Barbaux, S., Quintana-Murci, L., Kanafani, S., et al., 2000. Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Hum Reprod* 15, 2559–2562.
- Silber, S.J., 2011. The Y chromosome in the era of intracytoplasmic sperm injection: a personal review. *Fertil Steril* 95, 2439–2448.e5.
- Simoni, M., Gromoll, J., Dworniczak, B., Rolf, C., Abshagen, K., Kamischke, A., et al., 1997. Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in AZoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril* 67, 542–547.
- Soares, A.R., Costa, P., Silva, J., Sousa, M., Barros, A., Fernandes, S., et al., 2012. AZFb microdeletions and oligozoospermia-which mechanisms? *Fertil Steril* 97, 858–863.
- Song, S.H., Shim, S.H., Bang, J.K., Park, J.E., Sung, S.R., Cha, D.H., 2012. Genome-wide screening of severe male factor infertile patients using BAC-array comparative genomic hybridization (CGH). *Gene* 506, 248–252.
- Stouffs, K., Lissens, W., Tournaye, H., Van Steirteghem, A., Liebaers, I., 2005. The choice and outcome of the fertility treatment of 38 couples in whom the male partner has a Yq microdeletion. *Hum Reprod* 20, 1887–1896.
- Suganthi, R., Vijesh, V.V., Vandana, N., Ali Benazir, F.J., 2014. Y Chromosomal microdeletion screening in the workup of male infertility and its current status in India. *Int J Fertil Steril* 7, 253–266.
- Tiepolo, L., Zuffardi, O., 1976. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 34, 119–124.
- van der Ven, K., Montag, M., Peschka, B., Leygraaf, J., Schwanitz, G., Haidl, G., et al., 1997. Combined cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening in males undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Mol Hum Reprod* 3, 699–704.
- van Golde, R.J., Wetzels, A.M., de Graaf, R., Tuerlings, J.H., Braat, D.D., Kremer, J.A., 2001. Decreased fertilization rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in the azoospermia factor c region of the Y chromosome. *Hum Reprod* 16, 289–292.
- Vogt, P.H., 2005. AZF deletions and Y chromosomal haplogroups: History and update based on sequence. *Hum Reprod Update* 11, 319–336.
- Vogt, P.H., Bender, U., 2013. Human Y chromosome microdeletion analysis by PCR multiplex protocols identifying only clinically relevant AZF microdeletions. *Methods Mol Biol* 927, 187–204.
- Vogt, P.H., Edelmann, A., Kirsch, S., Henegariu, O., Hirschmann, P., Kiesewetter, F., et al., 1996. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 5, 933–943.
- Wu, W., Zhou, Z.M., Lin, M., Mao, Y.D., Wang, W., Yang, X.Y., et al., 2011. Y-chromosome microdeletions do not affect the outcomes of ICSI for infertile males. *Zhonghua Nan Ke Xue* 17, 771–774.
- Yogev, L., Segal, S., Zeharia, E., Gamzu, R., Maymon, B.B., Paz, G., et al., 2004. Sex chromosome alignment at meiosis of azoospermic men with azoospermia factor microdeletion. *J Androl* 25, 110–116.
- Zhang, Y.S., Dai, R.L., Wang, R.X., Zhang, H.G., Chen, S., Liu, R.Z., 2013. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1,738 infertile men from northeastern China. *Urology* 82, 584–588.