

МИКРОДЕЛЕЦИЈЕ У ХРОМОЗОМА КОД ИНФЕРТИЛНИХ МУШКАРАЦА КАНДИДАТА ЗА МИКРОФЕРТИЛИЗАЦИЈУ

Момчило РИСТАНОВИЋ¹, Вера БУЊЕВАЧКИ¹, Цане ТУЛИЋ²,
Ивана НОВАКОВИЋ¹, Татјана ИЛЛЕ³, Драгица РАДОЈКОВИЋ⁴, Александра НИКОЛИЋ⁴

¹Институт за хуману генетику, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд;

²Институт за урологију и нефрологију, Клинички центар Србије, Београд; ³Институт за медицинску статистику и информатику, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд;

⁴Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Микроделеције Y хромозома су, после Клинефелтеровог (*Klinefelter*) синдрома, најчешћи генетски узрок неплодности мушкараца.

Циљ рада Циљ истраживања је био да се утврди учесталост микроделеција Y хромозома код мушкараца с идиопатском неплодношћу који су кандидати за микрофертилизацију (*Intracytoplasmic Sperm Injection – ICSI*), као и да се испита корелација генотипа и фенотипа код болесника са делецијама Y хромозома.

Метод рада У студију је првобитно укључено 160 одабраних мушкараца с малим бројем сперматозоида (мање од 5×10^6 сперматозоида по милилитру ејакулата), међутим, 40 мушкараца је искључено из даљег испитивања (код 10 испитаника су утврђени цитогенетски поремећаји, а код 30 је дијагностикован један од познатих узрока неплодности). Контролну групу испитаника чинило је 150 мушкараца који су остварили очинство бар једном у последње две године. Генomsка ДНК је изолована из периферне крви 120 одабраних испитаника, а постојање или изостанак делеција Y хромозома анализирано је у две мултиплекс реакције ланчаног умножавања (*Polimerase Chain Reaction – PCR*) коришћењем одговарајућих прајмера.

Резултати Изостанак амплификације коришћењем бар једног пара прајмера доказан је код 12 испитаника (10%), док у контролној групи испитаника није доказана ниједна делеција Y хромозома. Од укупно 12 откривених делеција, код девет испитаника делеција је локализована у региону *AZFc* (75%), код једног испитаника је откривена у региону *AZFa* (8%), док су код два испитаника делеције забележене у региону *AZFbc* (17%).

Закључак Испитивање микроделеција Y хромозома треба размотрити као важан елемент генетског саветовања инфертилних парова у Србији. Одлука о примени техника асистираних репродукције треба да буде заснована на резултатима клиничког прегледа, спермограма, кариотипа, ендокриних испитивања, као и на резултатима анализе микроделеција Y хромозома.

Кључне речи: неплодност; азоспермија; олигоспермија; *PCR*; Y хромозом; микрофертилизација

УВОД

Сперматогенеза је дуг и сложен процес који код човека просечно траје 74 дана и чији је резултат стварање високодиференцираних ћелија – сперматозоида. Процес је под контролом гена који се налазе на дугом краку Y хромозома (*Yq*), односно у регионима који се означавају *AZFa*, *AZFb* и *AZFc* (фактор азоспермије). Промене на генима одговорним за процес сперматогенезе, у које се убрајају и микроделеције Y хромозома, могу довести до застоја у процесу гаметогенезе у различитим фазама или онемогућити почетак стварања полних ћелија [1].

Неплодност је веома сложен здравствени проблем који се дефинише као немогућност остварења трудноће после најмање једне године сексуалних односа без примене контрацепције, а јавља се код 10-15% брачних парова [2]. У 40% случајева поремећај је утврђен код мушкараца, а поремећај код оба партнера постоји код сваког петог пара [3]. Код већине инфертилних мушкараца бележе се: умерена олигоспермија (мање од 5×10^6 сперматозоида по милилитру ејакулата), тешка олигоспермија (мање од 1×10^6 сперматозоида по милилитру ејакулата) или азосперми-

ја (изостанак сперматозоида у ејакулату) [4, 5]. Смањени број сперматозоида може бити изазван претестикулним, тестикулним, посттестикулним, имунолошким и генетским факторима. Поремећаји у броју сперматозоида могу се дијагностиковати и на основу биопсије тестиса, а налаз може указати на потпуни изостанак герминативних ћелија (*Sertoli Cell-Only Syndrome – SCOS*), хипосперматогенезу (енгл. *hypospermatogenesis*) или прекид сазревања (енгл. *maturation arrest*) [6-9]. Међутим, узрок мушке неплодности остаје неоткривен у више од 50% случајева [10]. Истраживања све више усмеравају пажњу на генетске узроке, а експлозивни раст техника за асистирану репродукцију поспешује ове студије [11]. Микрофертилизација (*Intracytoplasmic Sperm Injection – ICSI*) је често примењиван поступак вештачке оплодње, где се у условима *in vitro* спајају ооцита узета хируршким путем и сперматозоид који се добија из ејакулата или биопсијом тестиса.

Микроделеције Y хромозома су, после Клинефелтеровог (*Klinefelter*) синдрома, најчешћи генетски узрок неплодности мушкараца. Анализа ових микроделеција је веома важна због могућег преношења генетских поремећаја на потомство [12-14]. Тјеполо (*Tiepolo*) и

Цуфарди (*Zuffardi*) [15] су први објавили хипотезу о корелацији између делеција *Y* хромозома и мушке неплодности на основу испитивања кариотипа инфертилних мушкараца, уочивши, при том, велике делеције региона *Yq11* и *Yq12*. Овим је показано да је генетски фактор лоциран на луку краку *Y* хромозома веома важан за развој мушких герминативних ћелија. Овај ген или група гена су дефинисани као фактори азоспермије (*AZF*). Детаљна анализа локуса *AZF* је омогућена тек увођењем технике *PCR* (енгл. *Polymerase Chain Reaction*). Помоћу овог метода, који се заснива на лачаном умножавању сегмената ДНК помоћу полимераза, могуће је доказати интерстицијалне субмикроскопске делеције које нису видљиве на цитогенетском нивоу [16].

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се утврди учесталост микроделеција *Y* хромозома код мушкараца с идиопатском неплодношћу који су кандидати за микрофертилизацију (*ICSI*), као и да се испита корелација генотипа и фенотипа код испитаника с микроделецијама.

МЕТОД РАДА

Испитаници

Истраживање је изведено на Институту за хуману генетику Медицинског факултета Универзитета у Београду. Студија је обухватила 160 одабраних инфертилних мушкараца који су лечени на Клиници за урологију Института за урологију и нефрологију Клиничког центра Србије у Београду од јуна 2002. до јуна 2006. године. Код свих испитаника је, на основу дотадашњих клиничких и лабораторијских налаза, планирана микрофертилизација. Писану сагласност за укључивање у истраживање дали су сви испитаници, а његово извођење одобрио је Етички комитет КЦС.

Од 160 мушкараца првобитно укључених у истраживање, после клиничких, ендокринолошких и цитогенетских испитивања, одабрано је 120 испитаника с непознатим узроком инфертилитета код којих је извршена анализа микроделеција *Y* хромозома. Фертилитетни параметри спермограма испитани су на основу критеријума Светске здравствене организације [17]. Код мушкараца код којих су на основу два спермограма у последњих шест месеци утврђене азоспермија, умерена или тешка олигоспермија урађен је конституциони кариотип (техника *G-трака*). Вредности фоликулостимулирајућег хормона (*FSH*) у серуму одређене су методом радиоимуноесеја (*RIA*).

Контролну групу је чинило 150 мушкараца који су остварили очинство бар једном у последње две године и чији уролошки налаз није одступао од налаза здравих и плодних мушкараца (изостанак малигни-

тета, варикоцеле, крипторхидизма и опструкције семених канала).

Анализа микроделеција *Y* хромозома

Геномска ДНК је изолована из узорак периферне крви 120 испитаника методом исољавања [18]. Да би се доказао бар један од три типа делеције (*AZF_a*, *AZF_b* и *AZF_c*), коришћени су прајмери и услови за *PCR* које је препоручило Европско удружење андролога [19]. Анализирано је шест маркера у региону *AZF*: *sY84* и *sY86* за *AZF_a*, *sY127* и *sY134* за *AZF_b* и *sY254* и *sY255* за *AZF_c*. Маркери су амплификовани у мултиплекс *PCR*, које омогућавају умножавање већег броја ДНК сегмената под истим условима. Као интерне контроле, у истим реакцијама су умножавани региони *SRY* и *SRY/ZFY*, који се налазе на *Y* хромозому, ван сегмента *AZF*.

Анализа производа *PCR* вршена је електрофорезом у осмопостотном гелу од полиакриламида (*ПАА*). Гелови су бојени етидијумбромидом и посматрани на ултраљубичастом светлу. Делеција одређеног региона *AZF* откривена је изостанком одговарајућег производа добијеног применом *PCR*. Сви узорци у којима је откривена делеција су анализирани још два пута у појединачним *PCR*, коришћењем одговарајућег пара прајмера.

РЕЗУЛТАТИ

Анализа микроделеција *Y* хромозома

Од 160 насумично одабраних инфертилних мушкараца с азоспермијом и олигоспермијом, код 40 испитаника је доказан неки од познатих узрока неплодности: цитогенетски поремећај, крипторхидизам, варикоцела, опструкција, малигна болест или инфекција (Табела 1). Код 120 пацијената с идиопатском неплодношћу урађена је анализа микроделеција *Y* хромозома.

ТАБЕЛА 1. Клиничке одлике свих инфертилних испитаника.
TABLE 1. Clinical characteristics of all infertile patients.

Етиологија азоспермије и олигоспермије Aetiology of azoospermia and oligospermia	Број испитаника Number of patients
Цитогенетски поремећај Cytogenetic abnormality	10
Варикоцела Varicocele	8
Крипторхидизам Cryptorchidism	7
Опструкција, инфекција, малигна болест Obstruction, infection, malignant disease	15
Идиопатска неплодност Idiopathic infertility	120
Укупно Total	160

ма, које су откривене код 12 мушкараца (10%) (Табела 2). Од укупно 12 делеција, девет су забележене у региону *AZFc* (75%), делеција региона *AZFa* је доказана у једном случају (8%), док су делеције региона *AZFbc* доказане у два случаја (17%).

Корелација генотипа и фенотипа

Код свих испитаника с микроделецијама у регионима *AZFa* и *AZFbc* дијагностикована је азоспермија. Код пет мушкараца с микроделецијама у региону *AZFc* забележена је тешка олигоспермија, док су четири испитаника имала азоспермију. Мушкарци који су чинили контролну групу имали су нормалан спермограм. Биопсијом тестиса утврђена је хипосперматогенеза код свих девет испитаника са *AZFc* делецијама, док је *SCOS* забележен код једног испитаника са *AZFa* делецијом. Код оба мушкараца код којих су откривене делеције у региону *AZFbc* биопсијом тестиса утврђен је прекид сперматогенезе (Табела 2). Код испитаника са *AZFa* делецијом ниво *FSH* је био повишен (36 *mIU/ml*), док је код осталих испитаника био

ТАБЕЛА 2. Корелација генотипа и фенотипа код мушкараца са делецијама *Y* хромозома.

TABLE 2. Genotype–phenotype correlation in patients with *Y* chromosome deletions.

Тип делеције Type of deletion	Број испитаника Number of patients	Азо-спермија Azo-spermia	Олигоспермија Oligospermia	Налаз биопсије тестиса Results of testis biopsy
<i>AZFa</i>	1 (8.3%)	1	0	<i>Sertoli Cell-Only Syndrome</i>
<i>AZFbc</i>	2 (16.7%)	2	0	Застој у сазревању Maturation arrest
<i>AZFc</i>	9 (75.0%)	4	5	Хипосперматогенеза Hypospermatogenesis
Укупно Total	12 (100.0%)	7	5	

ТАБЕЛА 3. Одлике испитаника с идиопатском неплодношћу и контролне групе.

TABLE 3. Characteristics of patients with idiopathic infertility and control group.

Испитаници Patients	Број испитаника Number of patients	Просечна старост (године) Average age (years)	<i>FSH</i> (<i>mIU/ml</i>)
Са делецијама <i>Y</i> хромозома With <i>Y</i> chromosome deletions	12	34.3	8.4
Без делеција <i>Y</i> хромозома Patients without <i>Y</i> chromosome deletions	108	31.5	8.0
Контролна група (нема делеција) Control group (no deletions)	150	35.7	7.6

у границама референтних вредности (0,7-11 *mIU/ml*). Просечна вредност *FSH* у серуму код мушкараца с микроделецијама *Y* хромозома (8,4 *mIU/ml*) није се значајно разликовала од просечне вредности забележене код испитаника без микроделеција (8,0 *mIU/ml*) и фертилних испитаника контролне групе (7,6 *mIU/ml*) (Табела 3). Микроделеције *Y* хромозома нису откривене код испитаника контролне групе.

ДИСКУСИЈА

Учесталост микроделеција *Y* хромозома код мушкараца с идиопатском неплодношћу променљива је у зависности од критеријума за одабир испитаника, употребљених прајмера, географских и етничких разлика [20-23]. Ова студија је имала циљ да испита учесталост и тип микроделеција *Y* хромозома код мушкараца с идиопатском неплодношћу који су кандидати за микрофертилизацију. Микроделеције *Y* хромозома су откривене код 10% испитаника с идиопатском неплодношћу, што је у складу с резултатима истраживања у земљама источне Европе и Далеког истока [23-26]. С друге стране, заступљеност микроделеција *Y* хромозома је већа у односу на резултате из земаља западне и јужне Европе [27-29]. Разлике у учесталости делеција су вероватно последица етничких разлика међу испитиваним народима, као и постојања идиопатских облика неплодности код испитаника с азоспермијом, односно олигоспермијом. Корелација генотипа и фенотипа, односно повезивање налаза параметара спермограма који указују на фертилитет, биопсије тестиса и вредности *FSH* у серуму са постојањем и типом микроделеција *Y* хромозома су показали да се генетском анализом може на једноставан, брз и неинвазиван начин доћи до закључка да ли је и у којој мери сперматогенеза поремећена, што је од кључног значаја за особе које су кандидати за вантелесну оплодњу [21, 22, 25].

Делеција *AZFc* је најчешће откривена делеција у овом испитивању, што је такође у складу с резултатима великог броја истраживања, као и са нашим досадашњим резултатима [30]. Овај податак је веома важан јер мушкарци са делецијом у региону *AZFc* могу остварити потомство само помоћу микрофертилизације (*ICSI*), при чему се незрели мушки гамет (сперматида) мора биопсијом извадити из тестиса. Такође, важно је напоменути да синови очеве са делецијама региона *AZFc* наслеђују ову промену [12, 13].

Делеције у регионима *AZFa* и *AZFbc* представљају патолошки налаз, где ни природна, ни вантелесна оплодња нису могуће јер су удружене са застојем у сазревању или хипосперматогенезом [19]. У овом истраживању су код једног испитаника са делецијом *AZFa* биопсијом тестиса доказани *SCOS* и повишен ниво *FSH* у серуму, што је у складу с резултатима до којих су дошли други истраживачи [1, 6, 19, 21]. Код два испитаника са делецијама у региону *AZFbc* биоп-

сијом је утврђен прекид сазревања. Код свих мушкараца са делецијама *AZFa* и *AZFbc* дијагностикована је азоспермија, док је пет испитаника са делецијама у региону *AZFc* имало тешку олигоспермију, а четири азоспермију. У погледу старосног доба и нивоа *FSH* у серуму, нису утврђене статистички значајне разлике између групе испитаника с идиопатским обликом неплодности и испитаника контролне групе.

ЗАКЉУЧАК

Испитивање делеција *Y* хромозома код мушкараца с олигоспермијом и азоспермијом је веома важно јер се тако брачном пару може дати прецизнији генетички савет у вези с успешношћу вантелесне оплодње, због могућности побачаја, односно проблема везаних за плодност мушког потомка, пре него што уђу у процедуру везану за било који поступак вантелесне оплодње. Наши резултати су показали да су у Србији микроделеције *Y* хромозома честе код мушкараца с идиопатским обликом неплодности и да је њихово откривање важан елемент приликом пружања савета неплодним паровима. Одлука о примени техника асистираних репродукције треба да буде заснована на налазима клиничког прегледа, спермограма, кариотипа, ендокриних испитивања, као и на резултатима анализе микроделеција *Y* хромозома и мутација *CFTR* gena.

ЛИТЕРАТУРА

1. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001; 22(2):226-39.
2. Kretser DM, Baker HWG. Infertility in man: recent advances and continuing controversis. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:3443-50.
3. Giradi SK, Mielnik A, Schlegel PN. Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. *Hum Reprod* 1997; 12:1635-41.
4. Nikolić A, Dinić J, Kusić J, Divac A, Ristanović M, Radojković D. Y chromosome microdeletions and *CFTR* gene mutations in Serbian infertile men. *European J Hum Genetics (Suppl)* 2006; 14(1):239-40.
5. Foresta C, Bettella A, Moro E, Roverato A, Merico M, Ferlin A. Sertoli cell function in infertile patients with and without microdeletions of the azoospermia factors on the Y chromosome long arm. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(6):2414-9.
6. Foresta C, Ferlin A, Garolla A, et al. High frequency of well-defined Y-chromosome deletions in idiopathic Sertoli cell-only syndrome. *Hum Reprod* 1998; 13:302-7.
7. de Lianos M, Ballesca L, Gazquez C, Margarit E, Oliva R. High frequency of gr/gr chromosome Y deletions in consecutive oligospermic ICSI candidates. *Hum Reprod* 2005; 20(1):216-20.
8. Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stupia L, Guanciali-Frachi P, Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2005; 20(2):437-42.
9. Fujisawa M, Shirakawa T, Kanzaki M, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Y-chromosome microdeletion and phenotype in cytogenetically normal men with idiopathic azoospermia. *Fertil Steril* 2001; 76(3):491-5.
10. Foresta C, Ferlin A, Garolla A, Rossato M, Barboux S, De Bortoli A. Y-chromosome deletions in idiopathic severe testiculopathies. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1075-80.
11. Foresta C, Garolla L, Bartoloni L, Bettella A, Ferlin A. Abnormalities among severely oligospermic men who are candidates for intracytoplasmic sperm injection. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(1):152-6.
12. Kuhnert B, Gromoll J, Kostova E, et al. Natural transmission of an *AZFc* Y chromosomal microdeletion from father to his sons. *Hum Reprod* 2004; 19(4):886-8.
13. Oates DR, Silber S, Brown GL, et al. Clinical characterization of 42 oligospermic or azoospermic men with microdeletion of *AZFc* region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum Reprod* 2002; 17(11):2813-24.
14. 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(9):2267-71.
15. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34:119-24.
16. Vogt PH, Edelman A, Kirsch S, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (*AZF*) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996; 5:933-43.
17. World Health Organization: Laboratory Manual for Examination of Human Semen and Cervical Mucus Interaction. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
18. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3):1215.
19. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl* 2004; 27(4):240-9.
20. Medica I, Gligorievska N, Prenc M, Peterlin B. Y microdeletions in the Istria county, Croatia. *Asian J Androl* 2005; 7(2):213-6.
21. Krausz C, Quintana-Murci L, Barboux S, et al. A high frequency of Y chromosome deletions in males with nonidiopathic infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(10):3606-12.
22. Chiang HS, Yeh SD, Wu CC, et al. Clinical and pathological correlation of the microdeletion of Y chromosome for the 30 patients with azoospermia and severe oligoasthenospermia. *Asian J Androl* 2004; 6(4):369-75.
23. Akiyuki S, Tomohiko I, Noriyuki S, et al. Microdeletions in the Y chromosome of patients with idiopathic azoospermia. *Asian J Androl* 2002; 4:111-5.
24. Fu J, Li L, Lu G. Relationship between microdeletion on Y chromosome and patients with idiopathic azoospermia and severe oligozoospermia in the Chinese. *Chin Med J* 2002; 115(1):72-5.
25. Dada R, Gupta NP, Kucheria K. *AZF* microdeletions associated with idiopathic and non-idiopathic cases with cryptorchidism and varicocele. *Asian J Androl* 2002; 4(4):259-63.
26. Raicu F, Popa L, Apostol P, et al. Screening for microdeletions in human Y chromosome *AZF* candidate genes and male infertility. *J Cell Mol Med* 2003; 7(1):43-8.
27. Peterlin B, Kunej T, Sinkovec J, et al. Screening for Y chromosome microdeletions in 226 Slovenian subfertile men. *Hum Reprod* 2002; 17(1):17-24.
28. Bor P, Hindkjaer J, Kolvræ S, et al. Y-chromosome microdeletions and cytogenetic findings in unselected ICSI candidates at a Danish Fertility Clinic. *J Assist Reprod Genet* 2002; 19(5):224-31.
29. Sertić J, Cvitković P, Myers A, et al. Genetic markers of male infertility: Y chromosome microdeletions and cystic fibrosis transmembrane conductance gene mutations. *Croat Med J* 2001; 42(4):416-20.
30. Ristanović M, Bunjevački V, Tulić C, Novaković I, Nikolić A. Molecular analysis of Y chromosome microdeletion in idiopathic cases of male infertility in Serbia. *Russian Journal of Genetics* 2007; 43(6):850-4.

Y CHROMOSOME MICRODELETIONS IN INFERTILE MALE CANDIDATES FOR MICROFERTILIZATION

Momčilo RISTANOVIĆ¹, Vera BUNJEVAČKI¹, Cane TULIĆ²,
Ivana NOVAKOVIĆ¹, Tatjana ILLE³, Dragica RADOJKOVIĆ⁴, Aleksandra NIKOLIĆ⁴

¹Institute of Human Genetics, School of Medicine, Univeristy of Belgrade, Belgrade;

²Institute of Urology and Nephrology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia;

³Institute of Statistics and Informatics, School of Medicine, Univeristy of Belgrade, Belgrade;

⁴Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, Belgrade

INTRODUCTION Y chromosome microdeletions are the second most frequent genetic cause of male infertility after Klinefelter's syndrome.

OBJECTIVE The aim of the study was to determine the frequency of Y chromosome microdeletions in a group of infertile men with an idiopathic cause of infertility, candidates for microfertilization (Intra-cytoplasmic Sperm Injection – ICSI) in Serbia and to correlate genotype-phenotype in patients with Y chromosome microdeletions.

METHOD One hundred and sixty patients with low sperm count (less than 5×10^6 spermatozoa/ml) were enrolled in the study. Forty patients were excluded from the study: ten because they were diagnosed with cytogenetic abnormality and thirty patients were diagnosed with other known causes of infertility. The control group consisted of 150 men who fathered at least one child in the last two years. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples and two multiplex polymerase chain reactions (PCR) analyses were performed using specific primers to confirm the presence or absence of Y chromosome microdeletions.

RESULTS Microdeletions were detected in 12 of 120 (10%)

cases, while no deletions were detected in the control group. Of total number of 12 deletions, nine were detected in AZFc region (75%), one in AZFa (8%), and two in AZFbc (17%).

CONCLUSION Testing for Y chromosome microdeletions should be considered as an important element in diagnosis and genetic counselling of infertile couples in Serbia. Decisions regarding the assisted reproduction should be made based on the detailed clinical, endocrinological and cytogenetic examinations, spermogram, presence or absence and type of AZF microdeletions and CFTR gene mutations.

Key words: infertility; azoospermia; oligospermia; PCR; Y chromosome; microfertilization

Momčilo RISTANOVIĆ
Institut za humanu genetiku
Medicinski fakultet
Višegradska 26, 11000 Beograd
Tel.: 011 361 5781
E-mail: ristanmomo@beotel.yu