

ĐÔNG LẠNH TINH TRÙNG BẰNG THỦY TINH HÓA: CẬP NHẬT THEO CẨM NANG HƯỚNG DẪN CỦA TỔ CHỨC Y TẾ THẾ GIỚI NĂM 2021

CNSH. Vũ Đoan Mỹ Trinh, ThS. Dương Nguyễn Duy Tuyền

Bệnh viện đa khoa Phương Chi

GIỚI THIỆU

Đông lạnh tinh trùng là một trong những kỹ thuật quan trọng được sử dụng rộng rãi tại các trung tâm hỗ trợ sinh sản, kỹ thuật này được thực hiện đầu tiên vào thế kỷ thứ 18 bởi nhà sinh học Ý, Lazzaro Spallanzani (Mahony và cs., 1990) và được phát triển ngày càng hiệu quả. Đông lạnh tinh trùng đầu tiên được thực hiện trên động vật và đến năm 1938, Luyet và Hoddap đã thực hiện thủy tinh hóa thành công tinh trùng ếch trong không khí lỏng (Luyet và Hodapp, 1938). Ở người, em bé đầu tiên được sinh ra từ tinh trùng đông lạnh bằng đá khô do Sherman và Bunge báo cáo vào năm 1953 (Bunger và Sherman, 1953). Tiếp sau đó, việc đông lạnh tinh trùng bằng nitơ lỏng đã được thực hiện thành công (Perloff và cs., 1964; Sherman, 1963) và trẻ sinh sống từ tinh trùng đông lạnh sau 4 thập kỷ lưu trữ trong nitơ lỏng cũng đã được ghi nhận (Szel và cs., 2013). Đông lạnh tinh trùng đã mở ra cơ hội điều trị và bảo tồn khả năng sinh sản cho nam giới, đặc biệt ở những người đang hóa trị hoặc xạ trị, bị thiếu năng lực sinh dục nặng hay rối loạn phóng tinh dẫn đến tổn thương tinh hoàn (Tao và cs., 2020).

Cho đến nay, tinh trùng được đông lạnh chủ yếu vẫn bằng phương pháp đông lạnh chậm, tuy nhiên đông lạnh tinh trùng bằng phương pháp thủy tinh hóa cũng đang ngày càng phát triển và chứng tỏ được sự hiệu quả (Tao và cs., 2020).

Thủy tinh hóa tinh trùng là phương pháp đông lạnh nhanh được thực hiện bằng cách đưa trực tiếp mẫu tinh trùng vào nitơ lỏng, mẫu tinh trùng được thủy tinh hóa ít bị ảnh hưởng bởi các tinh thể nội bào hình thành trong quá trình đông lạnh. Thủy tinh hóa đã được sử dụng trong đông lạnh noãn và phôi người trong nhiều năm qua với tỷ lệ sống sau rã cao (Niu và cs., 2021). Đây là phương pháp đơn giản, thực hiện dễ dàng, nhanh chóng, giúp tiết kiệm chi phí (Tao và cs., 2020) và có tiềm năng giúp cải thiện chất lượng tinh trùng khi rã đông, đặc biệt ở những bệnh nhân có số lượng tinh trùng thu được ít (Niu và cs., 2021).

NGUYÊN LÝ CỦA THỦY TINH HÓA TINH TRÙNG

Đông lạnh tinh trùng là quá trình liên quan đến việc sử dụng nhiệt độ thấp để bảo tồn cấu trúc và chức năng, làm giảm hoạt động trao đổi chất giúp tinh trùng cũng như các tế bào khác sống ở dạng tiềm sinh (Rall và Fahy, 2007). Về nguyên lý, thủy tinh hóa là quá trình làm lạnh với tốc độ cực nhanh từ 2.000 – 10.000°C/phút và không có sự cân bằng của áp suất; sự khử nước nhanh chóng xảy ra khi môi trường có nồng độ chất tan cao nhờ sử dụng chất bảo vệ đông lạnh (Cryoprotective Agent – CPA) và tốc độ làm lạnh lớn (Tao và cs., 2020). Trong quá trình này, độ nhớt của dung dịch tăng lên cho

đến khi các phân tử bị cố định chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái rắn có độ đặc như “thủy tinh”, đặc biệt quá trình này không có sự hình thành tinh thể đá trong môi trường nội bào hoặc ngoại bào (Schulz và cs., 2020). Về cơ bản, thủy tinh hóa tinh trùng là đưa tinh trùng vào môi trường có chất bảo vệ đông lạnh cao, sau đó cho chúng tiếp xúc trực tiếp với nitơ lỏng ở -196°C để bảo tồn chức năng và sự trao đổi chất (Schulz và cs., 2020).

Tinh trùng có rất nhiều đặc điểm thích hợp cho việc đông lạnh bằng phương pháp thủy tinh hóa. Tinh trùng là tế bào có kích thước nhỏ nhất trong cơ thể, nước chỉ chiếm khoảng 50% thể tích tế bào, bên trong tinh trùng lại có rất ít bào quan, nồng độ protein cao giúp tăng sức chịu đựng của tinh trùng trong quá trình đông lạnh (Duy, 2020). Màng tế bào của tinh trùng có sự khác biệt với các tế bào khác về tỷ lệ giữa các thành phần cấu trúc màng do đó màng tinh trùng có tính thấm thấu cao hơn (Isachenko và cs., 2007). Ngoài ra, những tinh trùng trưởng thành có DNA cô đặc và liên kết với protamine thay vì histone giúp DNA của tinh trùng ít bị ảnh hưởng bởi các tác nhân bên ngoài như sự thay đổi nhiệt độ được hạn chế tối đa (Duy, 2020). Tuy nhiên, thủy tinh hóa tinh trùng cũng có thể gặp bất lợi bởi kích thước tinh trùng quá nhỏ và nồng độ cao của chất bảo vệ đông lạnh (Schulz và cs., 2020). Việc tối ưu hóa quy trình thủy tinh hóa tinh trùng hiện nay vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu phát triển.

CÁC CHẤT BẢO VỆ ĐÔNG LẠNH VÀ DỤNG CỤ DÙNG TRONG THỦY TINH HÓA TINH TRÙNG

Trong quá trình đông lạnh, tinh trùng người phải chịu rất nhiều các tổn thương hóa lý diễn ra trong các cấu trúc và màng nội bào, để giảm bớt những tổn thương này, các chất bảo vệ đông lạnh đã được sử dụng (Tao và cs., 2020). Khác với quá trình thủy tinh hóa phiôi, quá trình thủy tinh hóa tinh trùng bằng các chất bảo vệ đông lạnh có nồng độ và tính thấm thấu cao không

phù hợp vì tinh trùng người dễ bị sốc thẩm thấu và có hiện tượng cuộn đuôi khi rã đông (Tao và cs., 2020). Các CPA thẩm thấu được sử dụng phổ biến nhất hiện nay bao gồm dimethyl sulfoxide, glycerol, glycol, ethylene và methanol, trong khi albumin, dextrans và citrate lòng đỏ trứng thường được sử dụng làm chất bảo vệ đông lạnh không thẩm thấu (Tao và cs., 2020).

Nhiều nghiên cứu cho thấy, khi thủy tinh hóa không sử dụng CPA thẩm thấu, tinh trùng sau rã đông có tỷ lệ di động, tỷ lệ sống sót cao hơn và tổn thương DNA thấp hơn nhóm sử dụng CPA thẩm thấu (Isachenko và cs., 2011; Slabbert và cs., 2015; Aizpurua và cs., 2017). Tuy nhiên, một nghiên cứu khác thực hiện với 30 mẫu tinh trùng cho thấy không có sự khác biệt về khả năng di động, tỷ lệ phân mảnh DNA tinh trùng, khả năng liên kết với hyaluronan sau rã đông giữa nhóm tinh trùng được thủy tinh hóa bằng CPA thẩm thấu so với nhóm còn lại (Agha-Rahimi và cs., 2014). Các nghiên cứu này đa phần có kích thước mẫu nghiên cứu nhỏ do đó cần nhiều hơn nữa các nghiên cứu có kích thước mẫu lớn hơn để đánh giá được hiệu quả của CPA thẩm thấu trong thủy tinh hóa tinh trùng (Tao và cs., 2020).

Với CPA không thẩm thấu, mỗi CPA khác nhau có nồng độ hoạt động tối ưu khác nhau. Schulz và cộng sự ghi nhận được khả năng di động và tính toàn vẹn màng tinh trùng sau rã đông cao hơn khi thủy tinh hóa tinh trùng bằng trehalose 0,1 mol/L (69%) so với sử dụng sucrose 0,25 mol/L (58%) (Schulz và cs., 2017). Một nghiên cứu khác cũng cho thấy butylhydroxytoluene (BHT) – một đồng phân của vitamin E – cũng giúp duy trì chức năng của tinh trùng sau thủy tinh hóa ở mức 1 mmol/L hiệu quả, trong đó khả năng di động tiến tới cao hơn, độ phân mảnh của DNA tinh trùng và các phản ứng oxy hóa có trong mẫu thấp hơn sau khi rã đông (Merino và cs., 2015). Mặc dù đã có các nghiên cứu cho thấy hiệu quả khác nhau ở các nhóm CPA và nồng độ, tuy nhiên, nghiên cứu sâu hơn là cần thiết để có thể biết được các loại

CPA không thẩm thấu tối ưu, nồng độ hoặc sự kết hợp tốt nhất của chúng (Tao và cs, 2020).

Áp suất thẩm thấu là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến kết quả đông lạnh tinh trùng và được kiểm soát bằng các CPA. Sử dụng CPA thẩm thấu trong môi trường đông lạnh làm tăng áp suất thẩm thấu, dao động trong khoảng 600 đến 1000 mOsm/L (Tao và cs., 2020). Tuy nhiên, thủy tinh hóa tinh trùng cần môi trường có áp suất trong khoảng 300 đến 396 mOsm/L và điều kiện áp suất này có thể đạt được khi sử dụng CPA không thẩm thấu hoặc kết hợp giữa hai loại CPA (Tao và cs., 2020). Tại một số trung tâm, CPA thường được dùng dưới dạng hỗn hợp bao gồm CPA và các chất bổ sung khác đồng thời việc sử dụng hỗn hợp các loại CPA sẽ giúp tối ưu khả năng của từng loại CPA đồng thời giảm các tác động bất lợi của từng loại (Duy, 2020). CPA có vai trò quan trọng trong thủy tinh hóa, tuy nhiên vẫn tiềm ẩn nhiều bất lợi, do vậy việc đông lạnh không sử dụng CPA đã được phát triển và cho kết quả khả quan mặc dù tỷ lệ di động sau rã còn thấp và cần cải thiện (Isachenko và cs., 2007).

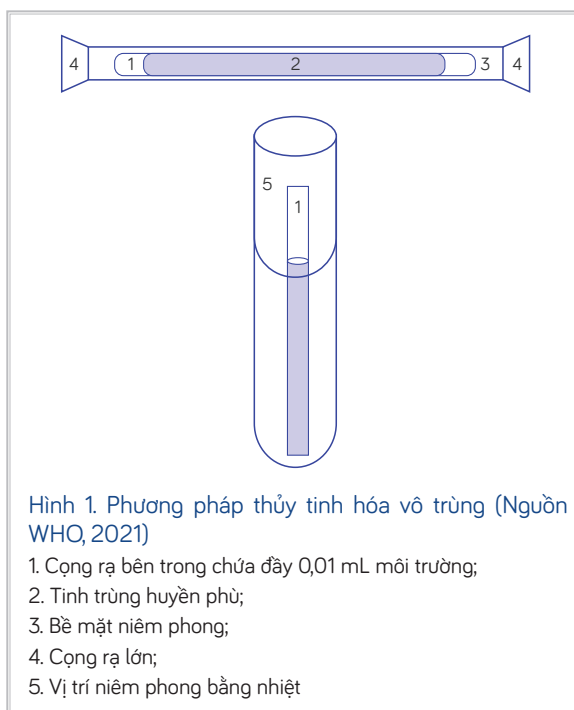
Ngoài chất bảo vệ đông lạnh, dụng cụ đông lạnh cũng đóng vai trò quan trọng góp phần vào sự thành công của kỹ thuật thủy tinh hóa tinh trùng. Bên cạnh các hệ thống mở như cryoloop, một hệ thống đông lạnh kín cũng đã được phát triển và áp dụng thành công trong quá trình thủy tinh hóa như Cryotip, VitriSafe, Cryopette, cryoLogic, Rapidi... (Schulz và cs, 2020). Nhiều dụng cụ đông lạnh dự kiến sẽ được phát triển và tối ưu hóa để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy tinh hóa tinh trùng trong tương lai (Tao và cs, 2020).

CÁC PHƯƠNG PHÁP THỦY TINH HÓA TINH TRÙNG

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO, 2021), tinh trùng có thể được đông lạnh bằng cách thủy tinh hóa trực tiếp với nitơ lỏng hoặc thủy tinh hóa trong cọng rạ.

Thủy tinh hóa trực tiếp trong nitơ lỏng được thực hiện với dụng cụ “hở” bằng cách pha loãng tinh dịch với môi trường đông lạnh sau đó nhỏ trực tiếp từng giọt hỗn hợp này vào nitơ lỏng sạch được chứa trong dụng cụ sử dụng một lần. Tiếp đến, các giọt tinh dịch đông lạnh này được đặt vào trong các cryotube và bảo quản trong nitơ lỏng (WHO, 2021). Tinh trùng được rã đông bằng cách sử dụng các ống đáy nhọn có chứa môi trường HTF bổ sung HSA 1% ở 37°C, và lắc ống mỗi khi giọt tinh dịch cần rã đông được đặt vào. Do mẫu tiếp xúc trực tiếp với nitơ lỏng và có nguy cơ gây nhiễm cho các mẫu khác nên việc thủy tinh hóa trực tiếp trong nitơ lỏng yêu cầu sử dụng nitơ lỏng vô trùng trong quá trình đông lạnh. Phương pháp này cho phép thu được tinh trùng có mật độ tương ứng với tinh trùng được đông lạnh (Schulz và cs., 2020).

Khác phương pháp trên, thủy tinh hóa tinh trùng trong cọng rạ được xem là phương pháp thủy tinh hóa vô trùng, sử dụng hệ thống kín, không tiếp xúc trực tiếp với nitơ lỏng, có thể thủy tinh hóa với một thể tích mẫu lớn cho tinh trùng di động (100 μ l) (WHO, 2021). Với phương pháp này, tinh trùng cần được lọc rửa thu cặn trong thể tích nhỏ và xác định mật độ sau lọc rửa. Sau đó, một lượng môi trường thủy tinh hóa được thêm vào mẫu với thể tích phù hợp sao cho thể tích huyền phù để thủy tinh hóa trên mỗi cọng rạ 0,25 ml là 100 μ l, mật độ tinh trùng trong mỗi cọng rạ là 0,1 – 3x10⁶ tinh trùng/ml. Quá trình huyền phù cặn lắng sau ly tâm với môi trường thủy tinh hóa (ở nhiệt độ phòng) cần được thực hiện trong khoảng thời gian ngắn, tránh thao tác kéo dài thời gian tiếp xúc vì có thể gây độc cho tinh trùng (WHO, 2021). Cọng rạ dùng để đông lạnh mẫu tinh trùng được cắt một đầu sao cho còn 2/3 chiều dài ban đầu, pipette được sử dụng để đưa thể tích mẫu vào mỗi cọng rạ cho đến khi đủ thể tích mẫu đông lạnh. Tiếp đến, đặt cọng rạ này vào trong lòng cọng rạ lớn, hàn nhiệt ở hai đầu cọng rạ bằng cách dùng kẹp giữ cọng rạ ngâm trong nitơ lỏng khoảng 5 giây trước khi



lưu trữ. Khi cần sử dụng, môi trường đã được làm ấm ở 42 – 43°C và rửa mẫu sau đã đông để loại bỏ chất bảo vệ đông lạnh trước khi sử dụng. Phương pháp này được xem là ít nguy hiểm hơn cho người thực hiện (WHO, 2021).

Thủy tinh hóa tinh trùng không sử dụng CPA là một phương pháp đang được quan tâm hiện nay (Chen và cs, 2015). Trong phương pháp này, tinh trùng sẽ được thủy tinh hóa trong môi trường mHTF chứa 10% SSS không có CPA với cryotop. Để đông lạnh tinh trùng, 0,5 μ L môi trường được đặt lên bề mặt cryotop ở nhiệt độ phòng, sau đó cho khoảng 10 tinh trùng di động vào môi trường. Ngay sau đó, tiến hành đặt cryotop trên mực nitơ lỏng 4 cm và sau 2 phút thả cryotop vào nitơ lỏng. Cryotop được đóng nắp và lưu trữ trong nitơ lỏng. Trước khi rã đông, môi trường đã được chuẩn bị gồm các giọt môi trường mHTF chứa 10% SSS có thể tích 0,5 μ L đặt trong đĩa có phủ dầu trong 2 giờ. Tinh trùng được rã đông khi nhúng trực tiếp cryotop trong một giọt môi trường và rửa trong các giọt còn lại. Với phương pháp này, một số lượng nhỏ tinh trùng người có thể được thủy tinh hóa thành công mà không cần sử dụng CPA với kết quả rất

khả quan (Chen và cs., 2015).

Cho đến nay vẫn chưa có phương pháp thủy tinh hóa nào được xem là tiêu chuẩn và tối ưu (Niu và cs, 2021) có thể do số lượng tinh trùng khá lớn trong hầu hết các mẫu tinh dịch và phương pháp đông lạnh chậm tinh trùng hiện nay cung cấp tỷ lệ phục hồi và tỷ lệ sống sót sau rã đông ở mức chấp nhận được. Do đó, cần nhiều hơn nữa những nghiên cứu các quy trình mới chứng minh hiệu quả vượt trội của thủy tinh hóa so với đông lạnh chậm trong đông lạnh tinh trùng (Chen và cs, 2015).

HIỆU QUẢ CỦA ĐÔNG LẠNH TINH TRÙNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦY TINH HÓA

Thủy tinh hóa tinh trùng đã được đề xuất như một giải pháp thay thế đông lạnh chậm trong những năm qua với nhiều nghiên cứu so sánh đã được thực hiện.

Nghiên cứu của Mohamed năm 2015 cho thấy không có sự khác biệt về chất lượng tinh trùng sau đã đông với đông lạnh chậm và thủy tinh hóa, tuy nhiên thủy tinh hóa có thời gian thao tác ngắn, dễ dàng thực hiện hơn, đi kèm với độc tính và chi phí thấp hơn (Mohamed, 2015). Nghiên cứu trên mẫu tinh dịch tươi (không bao gồm mẫu có rất ít tinh trùng) của Le và cộng sự ghi nhận được rằng tinh trùng sau đông lạnh chậm có khả năng di động và sống cao hơn, trong khi tinh trùng sau thủy tinh hóa có hình thái tốt hơn, có ít khiếm khuyết về phần đầu, phần giữa và đuôi của tinh trùng (Le và cs., 2019). Một nghiên cứu khác của Pabon và cộng sự khi so sánh hiệu quả của thủy tinh hóa và đông lạnh chậm cho thấy quá trình thủy tinh hóa là tối ưu cho việc bảo quản lạnh tinh trùng vì chúng giúp phục hồi di động và hoạt động của ty thể cao hơn (Pabon và cs., 2019). Gần đây, một nghiên cứu tổng quan hệ thống và phân tích tổng hợp so sánh hai kỹ thuật đông lạnh trên 2.428 bài báo đã xuất bản và 13 thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng cho thấy quá trình thủy tinh hóa vượt trội hơn so với đông

lạnh chậm trong khả năng bảo tồn chất lượng tinh trùng, hiệu quả của quá trình thủy tinh hóa sẽ khác nhau tùy theo quy trình thủy tinh hóa và chất lượng mẫu (Li và cs., 2019). Các dữ liệu lâm sàng của thủy tinh hóa tinh trùng cũng đã được xem xét, tuy nhiên số lượng nghiên cứu còn rất hạn chế. Một nghiên cứu được thực hiện vào năm 2018 bởi Arie và cộng sự trên 44 bệnh nhân vô tinh không do tắc được thủy tinh hóa tinh trùng cho tỷ lệ thụ tinh là 59%, tỷ lệ thai lâm sàng là 55%, tỷ lệ trẻ sinh sống là 32% và tỷ lệ sảy thai là 29%. Đây được xem là kết quả khả quan trong đông lạnh tinh trùng bằng thủy tinh hóa (Berkovitz và cs., 2018).

Với ưu điểm có thể lưu trữ được mẫu ở thể tích nhỏ với tỷ lệ thu hồi cao, thủy tinh hóa tinh trùng số lượng ít đang là xu hướng mới hiện nay (Chen và cs., 2015). Việc đông lạnh một số lượng nhỏ tinh trùng lấy từ những người vô tinh không do tắc cũng có thể tránh được các cuộc phẫu thuật TESE lặp lại trong các trường hợp điều trị thất bại, nhờ vậy giảm rủi ro trong quá trình thủ thuật như tổn thương tinh hoàn, xơ hóa mào tinh hoàn, teo tinh hoàn và suy thoái chức năng sinh tinh (Schlegel và Su, 1997). Do đó, tối ưu hóa quy trình đông lạnh tinh trùng cho mẫu tinh trùng số lượng ít là một quá trình quan trọng, đặc biệt ở bệnh nhân vô tinh (AbdelHafez và cs., 2009). Một số dụng cụ đã được phát triển để đông lạnh mẫu số lượng ít hiện nay có thể có tỷ lệ thu hồi từ 59% lên đến 100% (AbdelHafez và cs., 2009).

KẾT LUẬN

Thủy tinh hóa tinh trùng ở người đã và đang ngày càng hoàn thiện với tiềm năng ứng dụng cao. Việc tối ưu hóa quy trình thủy tinh hóa tinh trùng mở ra nhiều cơ hội cải thiện chất lượng trong đông lạnh – rã đông tinh trùng. Ngoài ra, cần nhiều hơn nữa các nghiên cứu lâm sàng về hiệu quả của phương pháp này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Duy, N.H., Bình, T.T.T., Thụy, N.T.M. & Vinh, Đ.Q. (2020), Kỹ thuật đông lạnh tinh trùng trong hỗ trợ sinh sản. Trong Tường, H.M., Vinh, Đ.Q. & Lan, V.T.N (Chủ biên), Thụ tinh trong ống nghiệm (tr. 325 – 339). Hồ Chí Minh: nxb.Tổng hợp.
2. AbdelHafez F, Bedaiwy M., El-Nashar S. A., Sabanegh E. and Desai N. (2009), "Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa: a systematic review", Human Reproduction Update, 15(2), pp.153–164.
3. Berkovitz A, Miller N, Silberman M, Belenky M. and Itsykson P. (2018), "A novel solution for freezing small numbers of spermatozoa using a sperm vitrification device", Human Reproduction, 33(11), pp.1975–1983.
4. Chen Y, Li L., Qian Y, Xu C., Zhu Y, Huang H., Jin F. and Ye Y. (2015), "Small volume vitrification for human spermatozoa in the absence of cryoprotectants by using Cryotop", Andrologia, 47(6), pp.694–699.
5. World Health Organization. (2021), "WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen", 5th ed. World Health Organization.
6. Schulz M., Risopatrón J., Uribe P., Isachenko E., Isachenko V. and Sánchez R. (2020), "Human sperm vitrification: A scientific report", Andrology, 8(6), pp.1642–1650.
7. Tao Y, Sanger E., Saewu A. and Leveille M.-C. (2020), "Human sperm vitrification: the state of the art", Reproductive Biology and Endocrinology, 18(1), pp.1–10.

Tiếp theo bài
ở trang 81 ➔ VAI TRÒ CỦA NHIỆM SẮC THỂ
GIỚI TÍNH X....

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Askari, M., Karamzadeh, R., Ansari-Pour, N., Karimi-Jafari, M. H., Almadani, N., Sadighi Gilani, M. A., Gourabi, H., Vosough Taghi Dizaj, A., Mohseni Meybodi, A., Sadeghi, M., Bashamboo, A., McElreavey, K. & Totonchi, M. 2019. Identification of a missense variant in CLDN2 in obstructive azoospermia. J Hum Genet, 64, 1023–1032.
2. Balasubramanian, R. & Crowley, W. F. 1993. Isolated gonadotropin-releasing hormone (GnRH) deficiency, Seattle.
3. Borgmann, J., Tuttelmann, F., Dworniczak, B., Ropke, A., Song, H. W., Kliesch, S., Wilkinson, M. F., Laurentino, S. & Gromoll, J. 2016. The human RHOX gene cluster: target genes and functional analysis of gene variants in infertile men. Hum Mol Genet, 25, 4898–4910.
4. Ferlin, A., Vinanzi, C., Garolla, A., Selice, R., Zuccarello, D., Cazzadore, C. & Foresta, C. 2006. Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations. Clin Endocrinol (Oxf), 65, 606–10.
5. Knowles, M. R., Zariwala, M. & Leigh, M. 2016. Primary Ciliary Dyskinesia. Clin Chest Med, 37, 449–61.
6. Li, L., Sha, Y. W., Su, Z. Y., Mei, L. B., Ji, Z. Y., Zhang, Q., Lin, S. B., Wang, X., Qiu, P. P., Li, P. & Yin, C. 2018. A novel mutation in HAUS7 results in severe oligozoospermia in two brothers. Gene, 639, 106–110.
7. Okutman, O., Muller, J., Skory, V., Garnier, J. M., Gaucherot, A., Baert, Y., Lamour, V., Serdarogullari, M., Gultomruk, M., Ropke, A., Kliesch, S., Herbepin, V., Aknin, I., Benkhalifa, M., Teletin, M., Bakircioglu, E., Goossens, E., Charlet-Berguerand, N., Bahceci, M., Tuttelmann, F. & Viville, S. 2017. A no-stop mutation in MAGEB4 is a possible cause of rare X-linked azoospermia and oligozoospermia in a consanguineous Turkish family. J Assist Reprod Genet, 34, 683–694.
8. Patat, O., Pagnin, A., Siegfried, A., Mitchell, V., Chassaing, N., Faguer, S., Monteil, L., Gaston, V., Bujan, L., Courtade-Saidi, M., Marcelli, F., Lalau, G., Rigot, J. M., Mieusset, R. & Bieth, E. 2016. Truncating Mutations in the Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene ADGRG2 Cause an X-Linked Congenital Bilateral Absence of Vas Deferens. Am J Hum Genet, 99, 437–42.
9. Visser, L., Westerveld, G. H., Xie, F., van Daalen, S. K., van der Veen, F., Lombardi, M. P. & Repping, S. 2011. A comprehensive gene mutation screen in men with asthenozoospermia. Fertil Steril, 95, 1020–4 e1–9.
10. Yatsenko, A. N., Georgiadis, A. P., Ropke, A., Berman, A. J., Jaffe, T., Olszewska, M., Westernstroer, B., Sanfilippo, J., Kurpiz, M., Rajkovic, A., Yatsenko, S. A., Kliesch, S., Schlatt, S. & Tuttelmann, F. 2015. X-linked TEX11 mutations, meiotic arrest, and azoospermia in infertile men. N Engl J Med, 372, 2097–107.