



Estudio Molecular de la infertilidad masculina: Microdeleciones del cromosoma Y

MANLAB®
Diagnóstico Bioquímico y Genómico

 15 min.



Las causas de infertilidad masculina dependen de diversos factores etiológicos, como anatómicos, endócrinos, infecciosos, trastornos inmunológicos, genéticos, factores ambientales, entre otros. De todas estas causas responsables de la infertilidad masculina, los factores genéticos aportan el 5% de la etiología total, aumentando hasta el 10% en aquellos pacientes que presentan menos de 5 millones de espermatozoides por ml. A continuación la Dra. María Pérez Jefa de Medicina Genómica de MANLAB nos presenta un trabajo completo sobre el cromosoma Y, su estructura, algunas microdeleciones que pueden presentarse y la relevancia de este tipo de estudios moleculares. Además nos comunica acerca de los estudios de microdeleciones que realiza el área de Medicina Genómica de laboratorios MANLAB.



Maria S. Perez, PhD (UBA)
Jefa de Medicina Genómica de MANLAB



E-mail: maria.perez@manlab.com.ar



La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la infertilidad como “la incapacidad de una pareja sexualmente activa, que no emplea métodos anti-conceptivos, de lograr el embarazo en el plazo de un año” (1).

Se estima que a nivel mundial el porcentaje de infertilidad en las parejas en edad fértil oscila entre un 10% al 15%, donde aproximadamente un 40% de estos casos es causado por un factor masculino, un 40% atribuido al factor femenino y un 20% restante donde existe afección de ambos integrantes de la pareja (2,3). Dentro de esta población masculina con problemas de fertilidad, el 40-50% presenta anomalías cuali-cuantitativas en el espermograma. El estudio del espermatozoide resulta esencial para las decisiones terapéuticas, para ello la OMS ha difundido mediante la publicación del Manual de Laboratorio de la

OMS (WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen - 5th ed. 2010), lineamientos para estandarizar el análisis del semen humano y la interacción entre espermatozoides y moco cervical (1).

Las causas de infertilidad masculina dependen de diversos factores etiológicos, como anatómicos (criptorquidia, hipospadias), endócrinos (hipogonadismos), infecciosos (parotiditis, enfermedades de transmisión sexual), nutricionales, traumáticas, disfunciones sexuales (eréctiles, eyaculatorias), trastornos inmunológicos, genéticos, lesiones neurológicas, factores ambientales, tóxicos e idiopáticos. De estas diversas causas responsables de infertilidad en el hombre, los factores genéticos aportan el 5% de la etiología total, aumentando hasta el 10% en aquellos pacientes que presentan menos de 5 millones de espermatozoides por ml (4,5).

Entre los factores genéticos más frecuentes, se encuentran las alteraciones cromosómicas y alteraciones genéticas, donde se incluyen aneuploidías o cambios

DIAGNOS MED S.R.L.



Conesa 859 (C1426AQR) CABA
Tel. 011 4552-2929 (Rot.) - Fax 011 4551-5296
info@diagnosmed.com - www.diagnosmed.com

EUROIMMUN



- Neurología
- Endocrinología
- Gastroenterología
- Reumatología

www.euroimmun.com



www.diazyme.com

- Kits Automatizables
- Acidos Biliares (Registro en tramite)
- 5' Nucleotidasa (Registro en tramite)
- ADA



www.zentech.com

- Kits Screening Neonatal
- MSUD (Registro en Tramite)
- Otros: Biotinidasa, G-6-PD, Fibrosis Quisítca



www.anshlabs.com

- Hormona Anti Mulleriana Elisa
- IGF-I, IGF-11, IGFBP3, IGFBP5
- Inhibina B Elisa
- Nueva Hormona Mulleriana Papel de Filtro



www.molecularmd.com

- BCR/ABL



www.rsrltd.com



www.quidel.com



www.mybiosource.com



www.bioassaysys.com



www.diasource-diagnostics.com



www.ebioscience.com



www.scopescreen.com



www.institut.com



www.biovision.com



www.salimetrics.com

en el número de cromosomas sexuales o autosómicos, traslocaciones, grandes deleciones y desordenes monogénicos. Sin embargo, las “microdeleciones del cromosoma Y” representan la causa genética molecular más frecuente de infertilidad masculina, luego del Síndrome de Klinefelter (6, 7,8).

La detección de estas microdeleciones en el brazo largo del cromosoma Y ha supuesto un avance significativo en la comprensión de la infertilidad masculina. Se estima que la prevalencia a nivel mundial es de 1/4000 hombres aproximadamente en la población general, observándose un aumento significativo en la frecuencia entre hombres infértiles con presencia clínica de oligozoospermia o azoospermia que varía entre el 2% al 10% (9, 10,11).

El estudio de éstas alteraciones de origen genético resulta de gran interés desde el punto de vista clínico, pronóstico e incluso legal, debido a la alta prevalencia sobre todo en los casos con un factor masculino severo que requerirán técnicas de reproducción asistida o procedimientos de fecundación in vitro y por las implicancias socio culturales que tienen estas afecciones genéticas en el contexto de una potencial transmisión padre a hijo.

Estructura del cromosoma Y

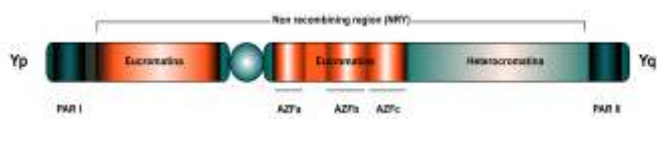
El cromosoma Y constituye uno de los cromosomas más pequeños del genoma humano, contiene cerca de 60 millones de pares de bases y tiene un menor número de genes comparado con cualquier otro cromosoma (12,13).

Estructuralmente el cromosoma Y se compone de dos regiones pseudoautosómicas, PAR1 y PAR2 (pseudoautosomal región) en el brazo corto (Yp) y brazo largo del cromosoma Y (Yq) que recombinan respectivamente, con sus homólogos en el cromosoma X. El resto del cromosoma Y (~95%) es conocido como región no recombinante o NRY (non-recombining region) o como región masculina específica o MSY (male specific region), (Figura 1). Esta última región contiene elementos repetitivos intra-cromosomales que podrían igualmente, ser homólogos a regiones en el cromosoma X (13,14).

Desde el punto de vista citogenético este cromosoma se divide en una región eucromática proximal (Yq11, subdividida en Yq11.1, 11.21, 11.22 y 11.23), una región centromérica y una región heterocromática distal (Yq12), mientras que la región eucromática en el brazo corto del cromosoma Y es llamada Yp11 (13).



Figura 1: Estructura general del Cromosoma Y.



Inicialmente no se asociaba ningún gen específico a este cromosoma más que la función en la determinación del sexo, sin embargo, estudios realizados a partir de los años 70 comenzaron a establecer la presencia de diferentes factores genéticos que permitieron, hasta la fecha, la identificación de 78 genes cuya combinación producen 27 proteínas expresadas en su mayoría a nivel testicular (15, 16,17).

En el brazo largo del cromosoma Y mapean diversos genes que están involucrados en la espermatogénesis, desde el año 1976 se sabe que, las deleciones en este cromosoma, se traducen en una falla en la espermatogénesis (15). Sin embargo fue en el año 1995, cuando tuvo lugar la caracterización definitiva de 3 regiones diferenciadas denominadas AZF (*Azoospermia Factor*) a, b y c, así como una cuarta región, reportada por ciertos estudios, denominada AZFd localizada entre AZFb y AZFc (18,19).

En el año 1997 se describieron definitivamente unidades de transcripción responsables de una función crítica en la producción y diferenciación de espermatozoides, vinculando las regiones AZF al proceso de espermatogénesis. Posteriormente, estudios más detallados del cromosoma Y revelaron que el brazo largo de este cromosoma posee numerosas regiones palindrómicas y que la presencia de estos repetitivos son las responsables de las microdeleciones en la región llamada AZF encontradas en hombres con problemas de fertilidad (20).

Microdeleciones del cromosoma Y

Las deleciones son aberraciones cromosómicas estructurales que consisten en la pérdida de un fragmento de un cromosoma, cuando estas regiones son pequeñas se las denomina “microdeleciones”. Por lo general estas alteraciones, en el contexto de infertilidad, son el resultado de un error producido durante el desarrollo de un ovocito o célula espermática.

Las microdeleciones del cromosoma Y consisten en pequeñas deleciones de la región eucromática del brazo largo región Yq11, en la cual se encuentran los factores de azoospermia AZFa, b, y c.

La región llamada AZF o factor de azoospermia está ubicada en el brazo largo del cromosoma Y, tal como se describió previamente se subdivide en 3 regiones no superpuestas: AZFa, AZFb y AZFc, cada una con un grupo de genes identificados que se caracterizan por expresarse en células germinales masculinas y estar involucrado en diferentes etapas de la espermatogénesis (18).

En cada una de estas regiones mapean diferentes genes o grupos de genes candidatos que intervienen en la fertilidad masculina. La región AZFa abarca 1 millón de pares de bases, sus genes presentan copias homólogas en el cromosoma X y su expresión es ubicua. En esta región se ha identificado el gen DFFRY (*Drosophila fat facets related Y*) y DBY (*dead box polipeptid Y*). Esta región está implicada en el proceso de diferenciación celular premeiótica y fase mitótica de la espermatogénesis.

La región AZFb, compuesta por 3 millones de pares de bases y donde mapean los genes RBM (*RNA binding motif*), los cuales posee copias repartidas a lo largo de todo el cromosoma Y. Los genes RBM (RBM1 y RBM2) codifican una proteína (RBMp) de expresión específica en las células germinales localizándose en sus núcleos con una secuencia de aminoácidos que une específicamente ARN, teniendo posiblemente un rol en el *splicing* del ARN. La función actual de la proteína RBM no es clara, la delección de las regiones que contienen el gen RBM1 se acompaña con frecuencia de alteración en la espermatogénesis, sin embargo no existe una correlación directa con un fenotipo de infertilidad (21,22).

Finalmente la región AZFc, compuesta por 1,4 millones de pares de bases y donde se encuentra la familia de genes DAZ (*deleted in azoospermia*), constituidos por 6 a 10 copias. Los genes DAZ traducen una proteína fijadora de ARN con ubicación en el citoplasma de las células germinales,

actuando posiblemente, en la regulación del transporte y almacenamiento del ARN mensajero (18,19). Se ha observado que los hombres con delección de AZFc pueden presentar cuadros desde oligozoospermias hasta azoospermia, por lo cual se infiere que el gen DAZ no es fundamental para la formación espermática y que los diferentes fenotipos se deban a diferentes grados de penetración de la mutación.

Otra familia de genes presentes en esta región, son los inicialmente denominados genes de la espermatogénesis en el Y o SPGY (*spermatogenesis gene on the Y*) (18), se sabe actualmente que forman parte de la familia de genes DAZ. A diferencia de los genes RBM que están dispersos por el cromosoma Y, los genes DAZ mapean todos en la región AZF, por lo cual, la delección de todas sus copias es más factible (21, 25,26).

De acuerdo a los genes que mapean en cada región AZF, la presencia de estas microdelecciones se asocian a diferentes clases de disrupción de la espermatogénesis

o fenotipo. Numerosas investigaciones han permitido arribar a diferentes conclusiones sobre este tema, a saber:

No se han detectado delecciones en varones normospermicos, por lo cual existe una clara relación causa-efecto con la insuficiencia espermática (9,28).

La mayor frecuencia de delecciones se encuentra en varones azoospermicos (hasta un 12%) seguidos por oligozoospermicos (hasta 7%) y es extremadamente baja (0.7%) en varones con una concentración de espermatozoides mayor a $5 \cdot 10^6$ /ml.

Las delecciones en la región AZFa son muy infrecuentes (5%) y se asocian, junto a la eliminación de la región AZFb, a la detención de la espermatogénesis que origina el fenotipo testicular grave Síndrome de sólo células de Sertoli o SCOS (Sertoli cell-only syndrome).

La delección de la región AZFb



BD Vacutainer® Soluciones de Valor

BD Vacutainer®, sistema líder en toma de muestra, cuenta con una exclusiva línea de tubos con tecnología de avanzada para realizar pruebas específicas de biología molecular y proteómica.

Para contactarse, llámenos al: 0800-444-55BD (23)
o escribanos a:
vacutainer@bd.com



produce una alteración de la espermatogénesis o síndrome de detención madurativa en la fase espermatocito-espermátide, mientras que la delección de AZFc se asocia a fenotipos y clínica variables compatible con una espermatogénesis residual, por lo cual, puede encontrarse también en hombres con azoospermia u oligozoospermia (27, 29, 34, 35, 36).

Dado que el proceso de fertilidad puede ser compatible con la presencia de ciertas microdeleciones, las delecciones en el cromosoma Y se consideran causa de oligo/azoospermia más que causa de infertilidad.

Estudios familiares revelan que estas microdeleciones pueden deberse a 2 situaciones bien definidas; en primer lugar es posible su aparición *de novo* en un sujeto, ya que el cromosoma Y es susceptible a pérdidas espontáneas debido a una alta frecuencia de elementos repetitivos. La segunda posibilidad es la transmisión de la ascendencia de la microdelección, bien de forma espontánea donde la elevada edad del padre podría ser un factor predisponente, o bien tras un tratamiento por infertilidad. En ambos casos, estas microdeleciones conducen a la disfunción de genes vitales para la espermatogénesis debido a la pérdida de segmentos específicos de ADN, considerándose la causa genética más frecuente de infertilidad, y siendo la más común aquella confinada a la región AZFc que contiene el gen DAZ, la cual afecta al 6% de los hombres con oligozoospermia severa y al 13% con azoospermia (28, 30).

Estudio molecular del cromosoma Y

El diagnóstico molecular de las microdeleciones del cromosoma Y es un estudio genético de rutina que forma parte del diagnóstico diferencial en hombres con oligozoospermia o azoospermia. Desde 1999 la Academia Europea de Andrología (EEA) y la red de calidad Europea de Genética Molecular (EMQN), han promovido y estandarizado las técnicas de diagnóstico para microdeleciones del cromosoma Y a través de la publicación de guías prácticas.

El análisis del brazo largo del cromosoma Y se ha tornado más homogéneo y

fiable en diferentes laboratorios genéticos habituales. Las indicaciones del cribado de delecciones AZF se basan en el recuento de espermatozoides y comprenden azoospermia y oligozoospermia grave (< 5 millones de espermatozoides/ml). La guía clínica de la EAA ofrece un conjunto de normativas y recomendaciones para el estudio correcto y la estandarización de estos ensayos, los cuales pueden detectar más del 95 % de las delecciones clínicamente relevantes (29, 31).

Los estudios para identificar las delecciones del cromosoma Y, consisten en técnicas de amplificación del ADN de una región o locus a través de la técnica de PCR, específicamente, la complejidad de la región AZF se estudia a través de la detección de marcadores genéticos llamados sitios de secuencia de etiquetado o STS (*Sequence tagged sites*). Las zonas STSs son secuencias utilizadas para mapeo cromosómico, estas pueden ser amplificadas en el laboratorio con el desarrollo de una PCR (18). En estas guías se delinean algoritmos para el *screening* de AZF y un estudio básico o inicial utilizando 6 marcadores o STS: sY84, sY86 para la región AZFa, sY127, sY134 para AZFb y sY254, sY255 correspondientes a la región AZFc. Un posterior estudio extensivo de microdeleciones utilizando marcadores secundarios, se recomienda para aquellas muestras positivas en el primer ensayo (31, 32).

Numerosos estudios han demostrado que estos marcadores están ausentes hasta en un 30% en hombres infértiles. De acuerdo a diferentes publicaciones, la frecuencia de microdeleciones en la región AZF es de: AZFc (60-80%) la más frecuente, seguida de las delecciones en las regiones AZFb (1-5%), AZFb+c (1-3%) y finalmente AZFa (0.5-4%) (31).

Si bien no existe un consenso mundial, según la EAA y la mayoría de los estudios realizados hasta el momento, sugieren que los pacientes que deberían ser sometidos a este estudio son:

- Pacientes que presentan oligozoospermia severa o azoospermia no obstructiva para determinar la etiología de la producción disminuida de espermatozoides.
- Pacientes con cierta disfunción reproduc-

tiva que vayan a participar en programas de reproducción asistida.

- Pacientes candidatos a extracción testicular de espermatozoides o TESE (*testicular sperm extraction*), ya que las delecciones completas de la región AZFa ó AZFb ó AZFb+c son incompatibles con la recuperación de espermatozoides por este método.
- Finalmente aquellos pacientes los cuales son candidatos a inyección intracitoplasmática de espermatozoides o ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*), (9, 31, 33, 34).

La relevancia de estos estudios moleculares radica en que los diferentes parámetros clínicos y/o bioquímicos tales como: valores hormonales, volumen testicular, procesos infecciosos, no tienen valores predictivos respecto de las alteraciones seminales, en tanto que la detección de estas microdeleciones en AZF, no solo da información sobre el pronóstico del paciente, sino que también, afecta directamente la opción terapéutica ya que la integridad de esta región es requerida para que un hombre presente espermatogénesis normal.

El aumento en el número de estudios y el interés creciente en esta afección ha proporcionado en los últimos años evidencia suficiente y nuevos conocimientos que permiten identificar no solo la causa de la oligozoospermia o azoospermia para establecer un diagnóstico del paciente o identificar la mejor opción de tratamiento para asistir la fertilización de la pareja, sino también, para evaluar la posible transmisión de estas alteraciones genéticas a la descendencia masculina, quienes también serán potencialmente infértiles. Desde el área de Medicina Genómica de laboratorios MANLAB, se ofrece el estudio de microdeleciones del cromosoma Y, siguiendo las recomendaciones de consenso de los últimos años referidos a marcadores para la detección de estas microdeleciones, para todos aquellos pacientes con problemas de fertilidad y con el objeto de aportar nuevas herramientas y determinaciones de apoyo al diagnóstico molecular y a la práctica médica.



Bibliografía

- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen - 5th ed. 2010.
- Program for Appropriate Technology in Health. Infertilidad en los países en desarrollo. Outlook 1998;15(3):1-6.
- Fathalla, MF. Reproductive health in the world: two decades of progress and the challenge ahead. Reproductive health: a key to a brighter future. Biennial report 1990-1991 by J Khanna, PFA Van Look, PD Griffin, WHO 1992:3-31.
- Nagvenkar P, Desai K, Hinduja I, Zaveri K. Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. Indian J Med Res. 2005 Jul; 122(1):34-42.
- Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Molecular screening for Yq microdeletion in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia. J Biosci. 2003 Mar; 28(2):163-8.
- Hotaling JM. Genetics of male infertility. Urol Clin North Am. 2014 Feb; 41(1):1-17. doi: 10.1016/j.ucl.2013.08.009. Epub 2013 Oct 23.
- Ferlin, A, Arredi, B, Speltra, E, Cazzadore, C, Selice, R, Garolla, A, Lenzi, A, Foresta, C. 2007. Molecular and Clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. J Clin Endocrinol Metab, 92(3): 762-770.
- Calleja Macías IE, Martínez Garza SG, Gallegos Rivas MC, Ortiz López R, Gómez Guerra L, Barrera Saldaña HA, Gutiérrez Gutiérrez AM. Y chromosome micro-deletion identification in infertile males. Ginecol Obstet Mex. 2003 Jan; 71:25-31.
- Krausz C, Rajpert-De Meyts E, Frydelund-Larsen L, Quintana-Murci L, McElreavey K, Skakkebaek NE, Simoni M, Tüttelmann F, Gromoll J & Nieschlag E.J. Double-blind Y chromosome microdeletion analysis in men with known sperm parameters and reproductive hormone profiles: microdeletions are specific for spermatogenic failure. Clin Endocrinol Metab. 2001 Jun; 86(6):2638-42.
- Simoni M, Tüttelmann F, Gromoll J, Nieschlag E. Lo Giacco D, Chianese C, Sanchez-Curbelo J, Bassas L, Ruiz P & Rajmil O et al. Clinical consequences of microdeletions of the Y chromosome: the extended Münster experience. Reprod Biomed Online. 2008 Feb; 16(2):289-303.
- Lo Giacco D, Chianese C, Sánchez-Curbelo J, Bassas L, Ruiz P, Rajmil O, Sarquella J, Vives A, Ruiz-Castañé E, Oliva R, Ars E, Krausz C. 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. 2014 Jun; 22(6):754-61. doi: 10.1038/ejhg.2013.253. Epub 2013 Nov 6.
- Harris, P; Boyd, E; Young, BD; Ferguson-Smith, MA. 1986. Determination of DNA content of human chromosomes by flow cytometry. Cytogenet Cell Genet, 41: 14-21.
- Tilford CA1, Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Rozen S, Brown LG, Rosenberg M, McPherson JD, Wylie K, Sekhon M, Kucaba TA, Waterston RH, Page DC. A physical map of the human Y chromosome. Nature. 2001 Feb 15; 409(6822):943-5.
- Foot S, Vollrath D, Hilton A, Page DC. The human Y chromosome: overlapping DNA clones spanning the euchromatic region. Science. 1992 Oct 2; 258(5079):60-6.
- Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. Hum Genet. 1976 Oct 28; 34(2):119-24.
- Skaletsky H1, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Tin-Wollam A, Yang SP, Waterston RH, Wilson RK, Rozen S, Page D et al.. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. Nature. 2003 Jun 19; 423(6942):825-37.
- Ali S, Hasnain SE. Molecular dissection of the human Y chromosome. Gene. 2002 Jan 23; 283(1-2):1-10.
- Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Köhn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C, Hartmann M, Hartschuh W, Meschede D, Behre HM, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Gröne HJ, Jung A, Engel W, Haidl G. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. Hum Mol Genet. 1996 Jul; 5(7):933-43.
- Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, Rozen S, Jaffe T, Straus D, Hovatta O, et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. Nat Genet. 1995 Aug; 10(4):383-93.
- Lahn BT, Page DC. Functional coherence of the human Y chromosome. Science. 1997 Oct 24; 278(5338):675-80.
- Elliott DJ, Ma K, Kerr SM, Thakrar R, Speed R, Chandley AC, Cooke H. An RBM homologue maps to the mouse Y chromosome and is expressed in germ cells. Hum Mol Genet. 1996 Jul; 5(7):869-74.
- Dr. Re y Valzacchi, Gastón. Aspectos moleculares de la azoospermia. Ra. Arg. de Urol. Vol. 68 (1)2003.
- Kleene KC. Patterns of translational regulation in the mammalian testis. Mol Reprod Dev. 1996 Feb; 43(2):268-81.
- Pryor JL, Kent-First M, Muallan A, y col: Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. N Engl J Med 336: 534-539, 1997.
- Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P, Page DC. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. Lancet. 1996 May 11; 347(9011):1290-3.
- Rafael ÁGF, Bárbara MM, Rafael PC y Manuel LV. Microdeleciones del cromosoma Y. Rev Int Androl. 2007; 5(4):364-7.
- Krausz C, Forti G, McElreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. Int J Androl. 2003 Apr; 26(2):70-5.
- Krausz C1, Degl'Innocenti S. Y chromosome and male infertility: update, 2006. Front Biosci. 2006 Sep 1; 11:3049-61.
- Dohle GR, Diemer A, Giwercman A, Jungwirth Z, Kopa, Krausz. Guía clínica sobre la infertilidad masculina. European Association of Urology 2010.
- McElreavey K, Quintana-Murci L. Y chromosome haplogroups: a correlation with testicular dysgenesis syndrome? PAMIS. 2003 Jan; 111(1):106-13; discussion 114.
- Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F, European Academy of Andrology; European Molecular Genetics Quality Network. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. Andrology. 2014 Jan; 2(1):5-19. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x.
- 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 Aug; 27(4):240-9.
- Maurer B, Simoni M. Y chromosome microdeletion screening in infertile men. J Endocrinol Invest. 2000 Nov; 23(10):664-70.
- Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC. Clinical characterization of 42 oligospermic or azospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. Hum Reprod. 2002 Nov; 17(11):2813-24.
- Kleiman SE, Almog R, Yogev L, Hauser R, LeHAVI O, Paz G, Yavetz H, Botchan A. Screening for partial AZFa microdeletions in the Y chromosome of infertile men: is it of clinical relevance? Fertil Steril. 2012 Jul; 98(1):43-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.034. Epub 2012 Apr 25.
- Niederberger C. Re: Screening for partial AZFa microdeletions in the Y chromosome of infertile men: is it of clinical relevance? J Urol. 2013 Feb; 189(2):656-7. doi: 10.1016/j.juro.2012.10.100. Epub 2012 Dec 20.



TaqDNA Polimerasas y Enzimas HotStart tecnolab



TaqDNA Polimerasas. Cada kit incluye

- **CoralLoad PCR Buffer** que contiene dos colorantes para un fácil monitoreo de su reacción en geles de agarosa.
- **Q Solution** para amplificación de targets ricos en GC.
- **Buffer de PCR** con composición única KCl y (NH₄)₂SO₄ que garantiza una mínima necesidad de optimización y máxima especificidad.
- **Taq Polimerasas** modificadas que permiten el set-up de la reacción a temperatura ambiente.



Enzimas Hot Start. Cada kit incluye

- **Enzimas HotStart** de alta especificidad y rápida activación
- **Buffer de formulación única de QIAGEN** que minimiza amplificación no específica y dímeros de primers.
- **Solución Q de QIAGEN** para amplificación de targets ricos en GC (simil betaína).
- **Formato HotStart Plus** de activación en 5 minutos

Válida hasta el 30/09/16. No acumulable con otras promociones/descuentos vigentes ¡Haga su pedido ya!

estomba 964 • c1427cov • argentina • tel. 54-11 4555-0010 y 4859-5300 • fax 54-11 4553-3331 • info@tecnolab.com.ar • www.tecnolab.com.ar