

DOI: 10.2436/20.1501.02.66

Biologia de la reproducció
(Mercè Durfort i Francesca Vidal, ed.)*Treballs de la SCB. Vol. 59 (2008) 177-184*

ANÀLISI CITOGENÈTICA D'ESPERMATOZOIDES HUMANS

ZAIDA SARRATE,* ESTER ANTON,* JOAN BLANCO I FRANCESCA VIDAL

*Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Unitat de Biologia Cel·lular,
Universitat Autònoma de Barcelona.*

Adreça per a la correspondència: Francesca Vidal. Unitat de Biologia Cel·lular,
Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona.
Campus de Bellaterra. 08193 Bellaterra. Adreça electrònica: francesca.vidal@uab.cat.
* Les autores han contribuït igualment a la realització d'aquest treball.

RESUM

Les anomalies cromosòmiques són una de les principals causes d'esterilitat en l'espècie humana. A les anomalies del cariotip, molt més freqüents en individus que consulten per problemes reproductius que en la població general, s'afegeixen les anomalies meiótiques, limitades a la línia germinal, observades en pacients que presenten un cariotip somàtic normal. En ambdues situacions, s'ha descrit que en poden resultar espermatozoides portadors d'anomalies cromosòmiques. La producció d'aquests espermatozoides pot ser avaluada mitjançant la utilització de metodologies basades en la hibridació *in situ* fluorescent (FISH), i els estudis de FISH en espermatozoides s'han incorporat ràpidament als protocols d'estudi dels pacients amb problemes de fertilitat. En aquest article es revisen els resultats obtinguts en individus portadors d'anomalies numèriques per als cromosomes sexuals, en portadors d'anomalies cromosòmiques estructurals i en individus amb cariotip somàtic normal que consulten per problemes d'infertilitat; es fa també esment a la significança clínica d'aquest tipus d'estudi.

Paraules clau: citogenètica, cromosoma, espermatozoides, FISH, infertilitat.

CYTOGENETIC STUDIES OF HUMAN SPERMATOZOA

SUMMARY

Chromosome abnormalities are one of the major causes of human infertility. In infertile males, abnormal somatic karyotypes are more frequent than in the general population. Furthermore, meiotic disorders affecting the germ-cell line have been observed in men with normal somatic karyotypes consulting for infertility. In both cases, the production of unbalanced spermatozoa has been described. Basically addressed to establish re-

productive risks, fluorescence *in situ* hybridization (FISH) on decondensed sperm nuclei has become the most frequently used method to study the chromosomal constitution of spermatozoa. This paper reviews the information obtained through sperm FISH studies in carriers of numerical sex chromosome anomalies, carriers of structural chromosome reorganizations and infertile males with normal karyotypes emphasizing on its clinical significance.

INTRODUCCIÓ

En la gran majoria d'espècies animals, i molt especialment en humans, hi ha una clara relació entre anomalies genètiques i problemes reproductius. Es considera que hi ha una causa genètica en el 15 % dels pacients que consulten per problemes d'esterilitat o infertilitat (Küpker *et al.*, 1999). Així doncs, les anàlisis genètiques, de tipus citogenètic o bé dirigides a la detecció de mutacions gèniques específiques, s'inclouen en la majoria de protocols d'estudi de l'esterilitat masculina i els resultats obtinguts són rellevants per al consell reproductiu de les parelles.

Pel que fa als estudis citogenètics o cromosòmics, l'anàlisi del cariotip forma part de l'avaluació clínica bàsica. L'elevada incidència d'anomalies cromosòmiques constitucionals en pacients estèrils o infèrtils en relació amb la població general justifica la seva aplicació i permet diagnosticar al voltant del 7 % dels casos. A més, els estudis citogenètics del procés meiótic adreçats a la detecció d'anomalies que afecten exclusivament la línia germinal, i que, per tant, no poden ser diagnosticats mitjançant l'anàlisi del cariotip somàtic i es duen a terme a partir de teixit testicular, també s'han incorporat als protocols d'estudi (Egozcue *et al.*, 2005). Aquest darrer tipus d'anàlisi ha provat que al voltant del 6 % dels pacients amb un cariotip somàtic normal que consulten per problemes d'esterilitat presenten anomalies en el procés de la meiosi (Egozcue *et al.*, 2000), i aquesta incidència pot ar-

ribar fins al 17,5 % en el cas d'individus que presenten oligoastenoteratozoospermia severa (Vendrell *et al.*, 1999).

Les anomalies citogenètiques descrites (somàtiques i germinals) interfereixen en el procés d'espermatogènesi, i s'han considerat responsables tant de la disminució en el nombre final d'espermatozoides produïts com de donar lloc a espermatozoides portadors d'anomalies cromosòmiques en els pacients afectats.

La producció d'espermatozoides portadors d'anomalies cromosòmiques pot ser avaluada mitjançant la utilització de metodologies basades en la hibridació *in situ* fluorescent (FISH). La tècnica consisteix en l'aplicació de sondes de DNA específiques, que reconeixen determinats cromosomes o regions cromosòmiques, precedida per un protocol de descondensació de la cromatina espermàtica (Vidal *et al.*, 1993). L'anàlisi de les mostres a través d'un microscopi de fluorescència permet inferir el genotip de cada espermatozoide a partir del nombre, el color i la distribució dels senyals d'hibridació.

Aquesta tècnica ha ampliat notablement les possibilitats de valorar la dotació cromosòmica dels espermatozoides. Els estudis de FISH en espermatozoides s'han incorporat ràpidament als protocols d'estudi dels pacients amb problemes de fertilitat, molt especialment en els candidats a tècniques de reproducció assistida (Egozcue *et al.*, 2003; Sarrate *et al.*, 2005), ja que permeten obtenir dades fidedignes sobre la freqüència d'anomalies cromosòmiques en els

espermatozoides i una valuosa informació per orientar el consell reproductiu de cada cas.

En aquest article es revisen els resultats obtinguts a partir de l'aplicació de les metodologies de FISH en espermatozoides en individus amb fertilitat reduïda i el seu paper en el consell genètic reproductiu.

INDIVIDUS PORTADORS D'ALTERACIONS DEL CARIOTIP SOMÀTIC

Portadors d'anomalies numèriques

Les anomalies numèriques en els cromosomes sexuals són les anomalies més freqüents en els pacients estèrils que presenten alteracions en el seu cariotip.

La presència de línies cel·lulars 47,XXY origina la síndrome de Klinefelter, que generalment està associada a una incompetència meiótica dels espermatòcits primaris i a un bloqueig dràstic de l'espermatogènesi que, com a conseqüència, provoca l'esterilitat dels individus. Tot i que la gran majoria

dels pacients amb la síndrome de Klinefelter són azoospermics, en alguns individus s'observa algun focus d'espermatogènesi que dona lloc a una discreta producció d'espermatozoides. En el 87 % dels individus analitzats, els estudis de FISH en espermatozoides mostren increments en la incidència de gàmetes amb disomies per als cromosomes sexuals (Sarrate *et al.*, 2005). En individus Klinefelter aparentment no mosaics, la incidència mitjana és del 6,3 % (rang de 0-25 %) (vegeu la figura 1), valors clarament superiors al 0,2 % observat en individus de la població control (fèrtils i amb cariotip normal). En individus mosaics 46,XY/47,XXY aquest percentatge se situa al voltant del 2,5 % (rang de 0-7 %). La presència d'espermatozoides diploides en l'ejaculació també ha estat descrita per diversos grups d'investigació amb nombres que varien entre el 0,03 % i el 4,2 % (Sarrate *et al.*, 2005).

Els homes amb cariotip 47,XXY presenten graus de fertilitat molt variables i el nombre d'espermatozoides produïts oscil·la entre la normozoospermia i l'azoospermia. En aquests casos, un 3,7 % (rang de 0,1-14,4 %) dels espermatozoides analitzats en aquests

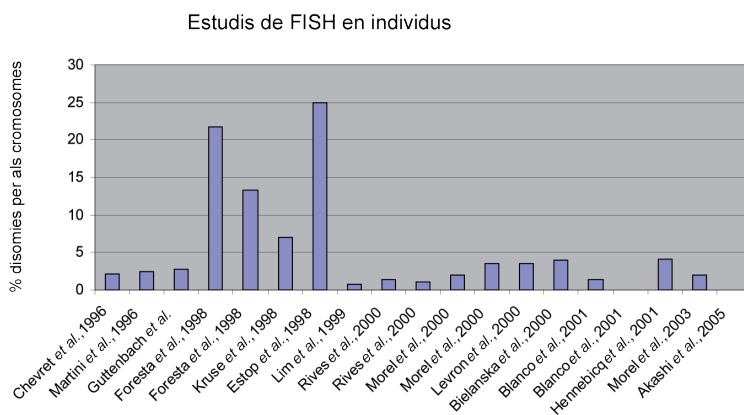


FIGURA 1. Incidència de disomies per als cromosomes sexuals en individus amb la síndrome de Klinefelter.

individus presenten un cromosoma sexual extra (vegeu la figura 2).

A totes les dades anteriors cal afegir que en aquests pacients l'anàlisi d'altres cromosomes a banda dels cromosomes sexuals ha posat de manifest l'existència de freqüències elevades d'espermatozoides portadors d'anomalies cromosòmiques numèriques. En concret, les anomalies del cromosoma 21 són de les més rellevants, i en pacients amb la síndrome de Klinefelter poden afectar el 6,2 % dels espermatozoides (Hennebicz *et al.*, 2001).

Així doncs, la producció d'espermatozoides portadors d'aneuploidies per als cromosomes sexuals i per a altres cromosomes, així com d'espermatozoides amb dotacions diploides, són característiques força comunes en els individus 47,XXY i 47,XYX.

No deixen de sorprendre, però, les grans diferències observades pel que fa a la producció d'espermatozoides amb anomalies cromosòmiques entre els individus estudiats (Blanco *et al.*, 2001; Sarrate *et al.*, 2005). Aquestes diferències s'atribueixen a la variabilitat genètica, especialment al grau de

mosaïcisme del teixit gonadal que puguin presentar aquests pacients.

Aquesta variabilitat justificaria la realització d'estudis de FISH en espermatozoides en els individus orientats a la utilització de tècniques de reproducció assistida, i faria evident la necessitat d'oferir un consell reproductiu adient a aquests pacients.

Portadors d'anomalies estructurals

Els portadors de reorganitzacions cromosòmiques estructurals presenten una major producció de gàmetes amb desequilibris cromosòmics respecte a la resta de població. En aquest context, la tècnica de FISH en espermatozoides, juntament amb el desenvolupament de noves sondes de DNA, ha permès analitzar els percentatges d'espermatozoides cromosòmicament desequilibrats produïts per portadors de translocacions (robertsonianes i recíproques) i inversions (pericèntriques i paracèntriques). Aquests estudis han mostrat que els resultats de la segregació d'aquestes reor-

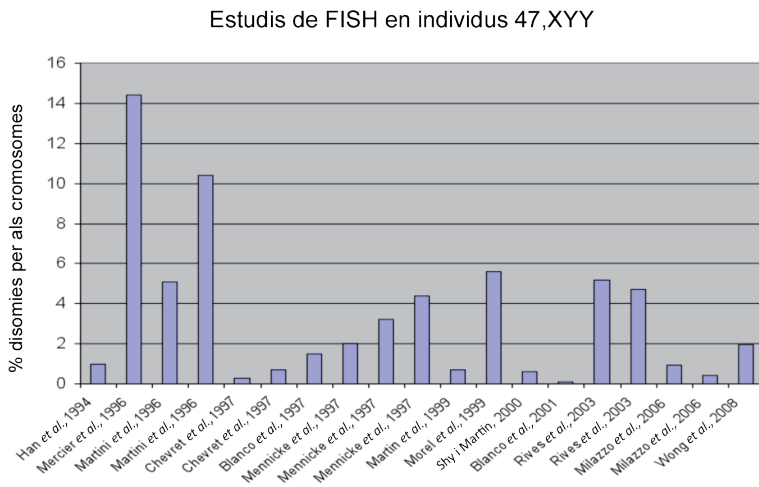


FIGURA 2. Incidència de disomies per als cromosomes sexuals en individus 47,XXY.

ganitzacions depenen del tipus i, en alguns casos, de les seves característiques.

Els estudis de segregació realitzats en portadors de translocacions robertsonianes durant els darrers anys han descrit freqüències de gàmetes desequilibrats que oscil·len entre el 7 i el 40 %. Tot i això, la majoria de valors se situen al voltant de la mitjana (84 %) i no s'han detectat factors cromosòmics que influeixin en aquesta reduïda variabilitat (revisat per Roux *et al.*, 2005; Anahory *et al.*, 2005; Brugnion *et al.*, 2006; Hatakeyama *et al.*, 2006; Moradkhani *et al.*, 2006a, 2006b; Ogur *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007; Kekesi *et al.*, 2007).

Els estudis de segregació realitzats en portadors de translocacions recíproques han mostrat freqüències de gàmetes desequilibrats més heterogènies que en el cas anterior (37,2-81,4 %). En aquest grup d'individus s'han descrit factors citogenètics relacionats amb les configuracions meiótiques adoptades per aquestes reorganitzacions, que poden influir en els resultats de segregació obtinguts (Anton *et al.*, 2008).

En portadors d'inversions, les dades publicades han descrit freqüències de gàmetes desequilibrats que oscil·len entre el 0,4 i el 54,3 %. En aquests individus, s'ha observat que la producció de gàmetes amb aneusomies de recombinació està directament cor-

relacionada amb la proporció del segment invertit de cada cas (revisat per Anton *et al.*, 2005) (vegeu la figura 3).

D'altra banda, la presència de reorganitzacions estructurals també s'ha relacionat amb l'ocurrència del fenomen conegut amb el nom de *efecte intercromosòmic* (ICE), que es caracteritza per l'aparició d'anomalies cromosòmiques numèriques com a resultat de la reorganització en la segregació correcta d'altres cromosomes. Diversos estudis han avaluat l'existència d'aquest fenomen mitjançant la valoració d'aneuploidies en portadors de translocacions robertsonianes (revisat per Douet-Guilbert *et al.*, 2005; Baccetti *et al.*, 2005; Machev *et al.*, 2005; Hatakeyama *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007; Kekesi *et al.*, 2007), en portadors de translocacions recíproques (revisat per Douet-Guilbert *et al.*, 2005; Anton *et al.*, 2004; Machev *et al.*, 2005; Kekesi *et al.*, 2007; Wiland *et al.*, 2007; Anton *et al.*, 2008; Vozdova *et al.*, 2008), i en portadors d'inversions (revisat per Anton *et al.*, 2005; Mikhaail-Philips *et al.*, 2005; Anton *et al.*, 2006; Vialard *et al.*, 2007). Els resultats obtinguts posen de manifest que gairebé la meitat dels portadors de reorganitzacions estructurals produeixen una quantitat de gàmetes amb anomalies cromosòmiques numèriques, no relacionades amb la reorganització, més elevada que la resta de la població. Entre aquests, els portadors de translocacions robertsonianes semblen els més susceptibles de presentar increments d'aneuploidies/diploidies (54%), seguits pels portadors de translocacions recíproques (46 %) i, finalment, pels portadors d'inversions, amb una incidència del 18 % (vegeu la figura 4).

Així doncs, els estudis de FISH en espermatozoides realitzats en aquests individus ajuden a inferir el comportament meiótic dels cromosomes estudiats.

En conjunt, la realització d'estudis cromosòmics en espermatozoides permeten

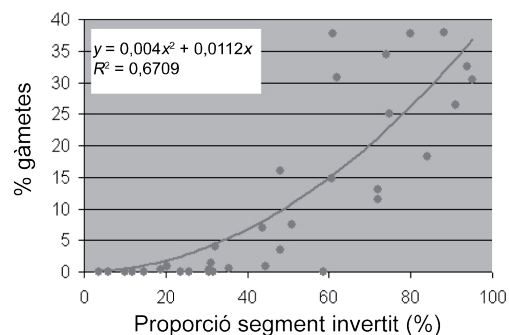


FIGURA 3. Relació entre la proporció del segment invertit i el percentatge de gàmetes recombinants produïts per portadors d'inversions cromosòmiques.

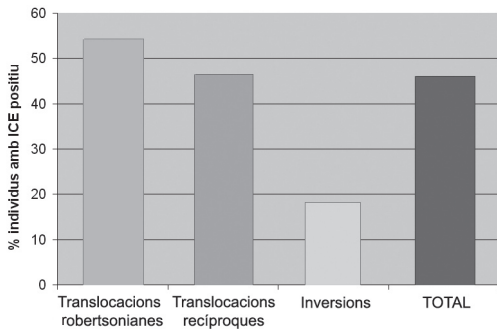


FIGURA 4. Incidència de casos amb ICE positiu entre els portadors de translocacions robertsonianes, recíproques i inversions.

dur a terme una valoració exhaustiva del risc reproductiu en portadors de reorganitzacions cromosòmiques. L'aplicació en el consell genètic d'aquests individus ha d'estar vinculada tant al tipus de reorganització cromosòmica com a l'estratègia reproductiva establerta.

INDIVIDUS INFÈRTILS AMB CARIOTIP SOMÀTIC NORMAL

La majoria dels individus infèrtils tenen un cariotip somàtic normal, però sovint presenten seminogrames alterats. Des d'un punt de vista clínic, s'ha observat que la incidència d'aneuploidies en els espermatozoides està directament relacionada amb la qualitat del semen (revisat per Egozcue *et al.*, 2003; Sarrate *et al.*, 2005), especialment amb un baix recompte espermàtic (revisat per Miharu, 2005). Diversos autors descriuen, d'una banda, freqüències significativament elevades d'espermatozoides aneuploides en individus oligozoospermics i, d'altra banda, una correlació directa entre un baix recompte espermàtic i els increments en les anomalies cromosòmiques dels espermatozoides (revisat per Miharu, 2005). En canvi,

la relació entre aneuploidies en els gàmetes masculins i les característiques de motilitat o morfologia espermàtica no s'ha establert d'una manera tan clara (revisat per Rives, 2005; revisat per Sun *et al.*, 2006; Collodel *et al.*, 2007; Strassburger *et al.*, 2007).

L'origen d'aquestes anomalies cromosòmiques pot trobar-se en errors en el procés meiótic, ja sigui en l'aparellament dels cromosomes homòlegs durant la profase I, o en els processos d'intercanvi del material genètic (Pearson *et al.*, 1970; Egozcue *et al.*, 1983, 2005). Aquestes anomalies sinàptiques s'han relacionat amb mutacions de gens propis de la meiosi involucrats tant en mecanismes de sinapsi i recombinació com en la reparació del DNA (revisat per Baarends *et al.*, 2001).

Lelevada heterogeneïtat entre els diferents estudis publicats, tant pel nombre d'individus analitzats, pels criteris de classificació dels pacients, per les característiques de la població control utilitzada, pels criteris de valoració de les mostres, pels cromosomes analitzats i, fins i tot, per les comparacions estadístiques realitzades, fa difícil una estimació fidedigna de les incidències d'espermatozoides aneuploides i diploides en aquest grup. Tot i així, cal destacar que són nombrosos els estudis que mostren increments significatius principalment en els percentatges de disomies per als cromosomes sexuals i diploidies (Finkelstein *et al.*, 1998; Templado *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2003; Tempest *et al.*, 2004; Sarrate *et al.*, 2005; Collodel *et al.*, 2007; Faure *et al.*, 2007). En aquest sentit, un estudi recent realitzat en el nostre laboratori en el qual s'han analitzat 245 individus infèrtils amb cariotip somàtic normal, mostra increments significatius en el 14 % dels individus (34/245), que majoritàriament impliquen disomies dels cromosomes sexuals (rang: 0,78-4,92 % respecte el 0,19 % de la població control) i diploidies (rang: 0,54-2,67 % respecte el 0,22 %).

És en aquest grup d'individus infèrtils amb cariotip somàtic normal, notablement heterogeni, en què un estudi combinat de diferents tècniques de FISH (Multi-FISH en nuclis interfàsics i M-FISH en espermatòcits primaris i secundaris) proporcionaria una informació més útil de com evoluciona el procés espermatogènic, i permetria la caracterització citogenètica de les cèl·lules dels espermatogonis fins als espermatozoides.

BIBLIOGRAFIA

- ANAHORY, T.; HAMAMAH, S.; ANDREO, B.; HEDON, B.; CLAUSTRÉS, M.; SARDA, P.; PELLESTOR, F. (2005). «Sperm segregation analysis of a (13;22) Robertsonian translocation carrier by FISH: a comparison of locus-specific probe and whole chromosome painting». *Hum. Reprod.*, 20: 1850-1854.
- ANTON, E.; BLANCO, J.; EGOZCUE, J.; VIDAL, F. (2005). «Sperm studies in heterozygote inversion carriers: a review». *Cytogenet. Genome Res.*, 111: 297-304.
- ANTON, E.; VIDAL, F.; BLANCO, J. (2008). «Reciprocal translocations: tracing their meiotic behaviour». *Genet. Med.*, 10: 730-738.
- BAARENDS, W. M.; LAAN, R. VAN DER; GROOTGOED, J. A. (2001). «DNA repair mechanisms and gametogenesis». *Reproduction*, 121: 31-39.
- BACCETTI, B.; COLLODEL, G.; MARZELLA, R.; MORETTI, E.; PIOMBONI, P.; SCAPIGLIATI, G.; SERAFINI, F. (2005). «Ultrastructural studies of spermatozoa from infertile males with Robertsonian translocations and 18, X, Y aneuploidies». *Hum. Reprod.*, 20: 2295-2300.
- BLANCO, J.; EGOZCUE, J.; VIDAL, F. (2001). «Meiotic behaviour of the sex chromosomes in three patients with sex chromosome anomalies (47,XXY, mosaic 46,XY/47,XXY and 47,XYY) assessed by fluorescence in-situ hybridization». *Hum. Reprod.*, 16: 887-92.
- BRUGNON, F.; ASSCHE, E. VAN; VERHEYEN, G.; SION, B.; BOUCHER, D.; POULY, J. L.; JANNY, L.; DEVROEY, P.; LIEBAERS, I.; STEIRTEGHEM, A. VAN (2006). «Study of two markers of apoptosis and meiotic segregation in ejaculated sperm of chromosomal translocation carrier patients». *Hum. Reprod.*, 21: 685-693.
- COLLODEL, G.; CAPITANI, S.; BACCETTI, B.; PAMMOLLI, A.; MORETTI, E. (2007). «Sperm aneuploidies and low progressive motility». *Hum. Reprod.*, 22: 1893-1898.
- CHEN, Y.; HUANG, J.; LIU, P.; QIAO, J. (2007). «Analysis of meiotic segregation patterns and interchromosomal effects in sperm from six males with Robertsonian translocations». *J. Assist. Reprod. Genet.*, 24: 406-411.
- DOUET-GUILBERT, N.; BRIS, M. J.; AMICE, V.; MARCHETTI, C.; DELOBEL, B.; AMICE, J.; BRAEKELEER, M. D.; MOREL, F. (2005). «Interchromosomal effect in sperm of males with translocations: report of 6 cases and review of the literature». *Int. J. Androl.*, 28: 372-379.
- EGOZCUE, J.; BLANCO, J.; ANTON, E.; EGOZCUE, S.; SARRATE, Z.; VIDAL, F. (2003). «Genetic analysis of sperm and implications of severe male infertility—a review». *Placenta*, 24: S62-65.
- EGOZCUE, J.; SARRATE, Z.; CODINA-PASCUAL, M.; EGOZCUE, S.; OLIVER-BONET, M.; BLANCO, J.; NAVARRO, J.; BENET, J.; VIDAL, F. (2005). «Meiotic abnormalities in infertile males». *Cytogenet. Genome Res.*, 111: 337-342.
- EGOZCUE, S.; VENDRELL, J. M.; GARCIA, F.; VEIGA, A.; ARAN, B.; BARRI, P. N.; EGOZCUE, J. (2000). «Increased incidence of meiotic anomalies in oligoasthenozoospermic males preselected for intracytoplasmic sperm injection». *J. Assist. Reprod. Genet.*, 17: 307-309.
- FAURE, A. K.; AKNIN-SEIFER, I.; FRÉROT, G.; PELLETIER, R.; ROBERTIS, C. DE; CANS, C.; LEVY, R.; JIMENEZ, C.; LEJEUNE, H.; TERRIER, N.; BERGUES, U.; HENNEBICQ, S.; ROUSSEAUX, S. (2007). «Predictive factors for an increased risk of sperm aneuploidies in oligoastheno-teratozoospermic males». *Int. J. Androl.*, 30: 153-162.
- FINKELSTEIN, S.; MUKAMEL, E.; YAVETZ, H.; PAZ, G.; AVIVI, L. (1998). «Increased rate of nondisjunction in sex cells derived from low-quality semen». *Hum. Genet.*, 102: 129-137.
- HATAKEYAMA, C.; GAO, H.; HARMER, K.; MA, S. (2006). «Meiotic segregation patterns and ICSI pregnancy outcome of a rare (13;21) Robertsonian translocation carrier: a case report». *Hum. Reprod.*, 21: 976-979.
- HENNEBICQ, S.; PELLETIER, R.; BERGUES, U.; ROUSSEAUX, S. (2001). «Risk of trisomy 21 in offspring of patients with Klinefelter's syndrome». *Lancet*, 357: 2104-2105.
- KEKESI, A.; ERDEI, E.; TOROK, M.; DRAVUCZ, S.; TOTH, A. (2007). «Segregation of chromosomes in spermatozoa of four Hungarian translocation carriers». *Fertil. Steril.*, 88: 212.e5-212.e11.
- KÜPKER, W.; SCHWINGER, E.; HIORT, O.; LUDWIG, M.; NIKOLETTOS, N.; SCHLEGEL, P. N.; DIEDRICH, K. (1999). «Genetics of male subfertility: consequences for the clinical work-up». *Hum. Reprod.*, 14: 24-37.
- MACHEV, N.; GOSSET, P.; WARTER, S.; TREGER, M.; SCHIL-

- LINGER, M.; VIVILLE, S. (2005). «Fluorescence in situ hybridization sperm analysis of six translocation carriers provides evidence of an interchromosomal effect». *Fertil. Steril.*, 84: 365-373.
- MARTIN, R. H.; RADEMAKER, A. W.; GREENE, C.; KO, E.; HOANG, T.; BARCLAY, L.; CHERNOS, J. (2003). «A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate, and severe oligozoospermia». *Biol. Reprod.*, 69: 535-539.
- MIHARU, N. (2005). «Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: oligozoospermia». *Cytogenet. Genome Res.*, 111: 347-351.
- MIKHAAIL-PHILIPS, M. M.; MCGILLIVRAY, B. C.; HAMILTON, S. J.; KO, E.; CHERNOS, J.; RADEMAKER, A.; MARTIN, R. H. (2005). «Unusual segregation products in sperm from a pericentric inversion 17 heterozygote». *Hum. Genet.*, 117: 357-365.
- MORADKHANI, K.; PUECHBERTY, J.; BHATT, S.; LESPINASSE, J.; VAGO, P.; LEFORT, G.; SARDA, P.; HAMAMAH, S.; PELLESTOR, F. (2006a). «Rare Robertsonian translocations and meiotic behaviour: sperm FISH analysis of t(13;15) and t(14;15) translocations: a case report». *Hum. Reprod.*, 21: 3193-3198.
- MORADKHANI, K.; PUECHBERTY, J.; BHATT, S.; VAGO, P.; JANNY, L.; LEFORT, G.; HAMAMAH, S.; SARDA, P.; PELLESTOR, F. (2006b). «Meiotic segregation of rare Robertsonian translocations: sperm analysis of three t(14q;22q) cases». *Hum. Reprod.*, 21: 1166-1171.
- OGUR, G.; ASSCHE, E. VAN; VEGETTI, W.; VERHEYEN, G.; TOURNAYE, H.; BONDUELLE, M.; STEIRTEGHEM, A. VAN; LIEBAERS, I. (2006). «Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers». *Mol. Hum. Reprod.*, 12: 209-215.
- PEARSON, P. L.; ELLIS, J. D.; EVANS, H. J. (1970). «A gross reduction in chiasma formation during meiotic prophase and a defective DNA repair mechanism associated with a case of human male infertility». *Cytogenetics*, 9: 460-467.
- RIVES, N. M. (2005). «Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: asthenozoospermia». *Cytogenet. Genome Res.*, 111: 358-362.
- ROUX, C.; TRIPOGNEY, C.; MOREL, F.; JOANNE, C.; FELLMANN, F.; CLAVEQUIN, M. C.; BRESSON, J. L. (2005). «Segregation of chromosomes in sperm of Robertsonian translocation carriers». *Cytogenet. Genome Res.*, 111: 291-296.
- SARRATE, Z.; BLANCO, J.; ANTON, E.; EGOZCUE, S.; EGOZCUE, J.; VIDAL, F. (2005). «FISH studies of chromosome abnormalities in germ cells and its relevance in reproductive counseling». *Asian J. Androl.*, 7: 227-236.
- STRASSBURGER, D.; REICHART, M.; KAUFMAN, S.; KASTERSTEIN, E.; KOMAROVSKY, D.; BERN, O.; FRIEDLER, S.; SCHACHTER, M.; RON-EL, R.; RAZIEL, A. (2007). «Morphology assessment and fluorescence in situ hybridization of the same spermatozoon using a computerized cell-scanning system». *Hum. Reprod.*, 22: 201-209.
- SUN, F.; KO, E.; MARTIN, R. H. (2006). «Is there a relationship between sperm chromosome abnormalities and sperm morphology?». *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 25: 1.
- TEMPEST, H. G.; HOMA, S. T.; DALAKIOURIDOU, M.; CHRISTOPIKOU, D.; WRIGHT, D.; ZHAI, X. P.; GRIFFIN, D. K. (2004). «The association between male infertility and sperm disomy: evidence for variation in disomy levels among individuals and a correlation between particular semen parameters and disomy of specific chromosome pairs». *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 14: 82.
- TEMPLADO, C.; HOANG, T.; GREENE, C.; RADEMAKER, A.; CHERNOS, J.; MARTIN, R. (2002). «Aneuploid spermatozoa in infertile men: teratozoospermia». *Mol. Reprod. Dev.*, 61: 200-204.
- VENDRELL, J. M.; GARCIA, F.; VEIGA, A.; CALDERON, G.; EGOZCUE, S.; EGOZCUE, J.; BARRI, P. N. (1999). «Meiotic abnormalities and spermatogenic parameters in severe oligoasthenozoospermia». *Hum. Reprod.*, 14: 375-378.
- VIALARD, F.; DELANETE, A.; CLEMENT, P.; SIMON-BOUY, B.; AUBRIOT, F. X.; SELVA, J. (2007). «Sperm chromosome analysis in two cases of paracentric inversion». *Fertil. Steril.*, 87: e411-415.
- VIDAL, F.; MORAGAS, M.; CATALÀ, V.; TORELLÓ, M. J.; SANTALÓ, J.; CALDERÓN, G.; GIMÉNEZ, C.; BARRI, P. N.; EGOZCUE, J.; VEIGA, A. (1993). «Sephadex filtration and human serum albumin gradients do not select spermatozoa by sex chromosomes: a fluorescent *in situ* hybridization study». *Hum. Reprod.*, 10: 1740-1743.
- VOZDOVA, M.; ORACOVA, E.; HORINOVA, V.; RUBES, J. (2008). «Sperm fluorescence in situ hybridization study of meiotic segregation and an interchromosomal effect in carriers of t(11;18)». *Hum. Reprod.*, 23: 581-588.
- WILAND, E.; MIDRO, A. T.; PANASIUK, B.; KURPISZ, M. (2007). «The analysis of meiotic segregation patterns and aneuploidy in the spermatozoa of father and son with translocation t(4;5)(p15.1;p12) and the prediction of the individual probability rate for unbalanced progeny at birth». *J. Androl.*, 28: 262-272.