

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

© Гар бичмэлийн эрхтэй

ДАМДИНСҮРЭНГИЙН ЭРДЭНЭСУВД

**ҮРГҮЙДЭЛТЭЙ ЭРЭГТЭЙЧҮҮДЭД У ХРОМОСОМЫН МИКРОДЕЛЕЦИ
БОЛОН БЭЛГИЙН ДААВРЫН ХАМААРЛЫГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН**

Е09120120 Эх барих эмэгтэйчүүдийн өвчин судлал

Анагаах Ухааны магистрын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл

Улаанбаатар хот

2018 он

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

ДАМДИНСҮРЭНГИЙН ЭРДЭНЭСУВД

**ҮРГҮЙДЭЛТЭЙ ЭРЭГТЭЙЧҮҮДЭД У ХРОМОСОМЫН МИКРОДЕЛЕЦИ
БОЛОН БЭЛГИЙН ДААВРЫН ХАМААРЛЫГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН**

Эрдэм шинжилгээний ажлын удирдагч:

АУ-ны доктор Б. Болорчимэг

Эрдэм шинжилгээний ажлын зөвлөх:

АУ-ны доктор, дэд профессор Г.Мэндсайхан

Эрдэм шинжилгээний ажлын шүүмжлэгч:

АУ-ны доктор, дэд профессор А.Шийрэвнямба

Улаанбаатар хот

2018 он

ТОВЧ ХУРААНГУЙ

Түлхүүр үг: Эрэгтэйчүүдийн үргүйдэл, микроделеци, азоосперми, хүнд зэргийн олигозоосперми

Сэдвийн нэр: Үргүйдэлтэй эрэгтэйчүүдэд У хромосомын микроделеци болон бэлгийн дааврын хамаарлыг тодорхойлсон дүн

Үндэслэл: Манай оронд үргүйдлийн тархалт 2003 онд 8.7%, 2013 онд 11.6%, 2017 онд 7.5%-тай тогтоогдсон бөгөөд ЭХЭМҮТ-д хийсэн судалгаагаар үргүйдлийн 25.6% нь эрэгтэй шалтгаантай байна. Эрэгтэйчүүдийн үргүйдлийг оношлоход шаардлагатай чухал шинжилгээнүүдэд бэлгийн дааврын болон У хромосомын микроделецийг илрүүлэх шинжилгээ багтдаг. У хромосомын микроделеци нь нийт хүн амын дунд 4000 эрэгтэйд 1 давтамжтайгаар тохиолддог байна. Гэвч энэ давтамж нь үргүйдэлтэй эрэгтэйчүүдийн дунд нилээд өндөр, азоосперми өөрчлөлттэй эрэгтэйчүүдэд 8-12%, хүнд зэргийн олигозоосперми өөрчлөлттэй эрэгтэйчүүдэд 3-7% тохиолддог.

Зорилго: Азоосперми, хүнд зэргийн олигозоосперми өөрчлөлттэй эрэгтэйчүүдэд бэлгийн дааврын хэмжээ болон У хромосомын микроделецийн тархалт, хэлбэрийг тодорхойлох.

Хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй: Нэг агшингийн судалгааны загвараар, 2018 оны 1 сараас 2018 оны 9 сарын хооронд нийт 75 оролцогчийг судалгаандаа хамруулав. Үрийн шингэний, бэлгийн дааврын, төмсөгний эдийн болон У хромосомын микроделецийг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын шинжилгээг хийн үр дүнг STATA программаар боловсруулав.

Үр дүн: У хромосомын микроделеци 2.6%-д илэрсэн бөгөөд AZFa хэсгийн бүрэн делеци 1, AZFc хэсгийн хэсэгчилсэн делеци 1 байв. Оролцогчдын ФИД-ын дундаж хэмжээ 15.59 ± 15.28 mIU/ml, ЛД-ын хэмжээ дундаж хэмжээ 8.35 ± 5.37 mIU/ml, нийт тестостерон дааврын дундаж хэмжээ 3.14 ± 2.15 ng/ml байсан бөгөөд У хромосомын микроделеци илэрсэн бүлэгт ФИД-ын дундаж хэмжээ статистик ач холбогдол бүхий өндөр байсан бол төмсөгний эдээс эр бэлгийн эс гарган авах ажилбараар эр бэлгийн эс гарсан болон гараагүй 2 бүлэгт нас, ФИД, ЛД хэмжээ статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байв.

Дүгнэлт: Бидний судалгаагаар У хромосомын микроделеци 2 тохиолдолд буюу 2.6%-ийн тархалттай илрэв. У хромосомын микроделеци илэрсэн бүлэгт ФИД дундаж хэмжээ өндөр байсан бол төмсөгний эдээс эр бэлгийн эс гарсан бүлэгт ФИД, ЛД-ын хэмжээ статистик ач холбогдол бүхий бага байв.

ABSTRACT

Keywords: Male infertility, microdeletion, azoospermia, severe oligozoospermia

Title: Relationship between Y chromosome microdeletion and sexual hormones in infertile men

Background: Infertility frequency in Mongolia is 8.7% in 2003, 11.6% in 2013 and 7.5% in 2017. According to the Child and Maternity hospital study, 25.6% of infertility is due to men. Microdeletions of the Y chromosome long arm are the most common molecular genetic causes of severe infertility in men. The aim of the present study was to reveal the patterns of Y chromosome microdeletions and sex hormone level in Mongolian infertile men.

Material and methodology: Through a cross sectional study, 75 infertile men were examined for Y chromosome microdeletions from January 2018 to September 2018. We determined semen analysis, hormone level, testis biopsy and microdeletions of the Y chromosome using six loci of 3 regions of the AZF gene were investigated by multiplex polymerase chain reaction. All collected data were evaluated with STATA program.

Results: Among the 75 infertile men, we determined 2 cases of Y chromosome microdeletions (2.6%). The deletion was on AZFa in 1 patient, AZFc in 1 patient. Serum FSH level was significantly higher in Y chromosome deleted group. Mean of FSH was 15.59 ± 15.28 mIU/ml, LH 8.35 ± 5.37 mIU/ml, total testosterone 3.14 ± 2.15 ng/ml. As comparing sperm-retrieved group to non-retrieved group, serum FSH and LH level was significantly lower in sperm-retrieved group on TESE. Other variables were found to be comparable between two groups.

Conclusion: We determined 2 cases of Y chromosome microdeletion (2.6%) in infertile men. The deletion was AZFa in 1 patient, AZFc in 1 patient. Serum FSH level was significantly higher in Y chromosome deleted group, serum FSH and LH level was significantly lower in sperm-retrieved group on TESE.

ГАРЧИГ

ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ	5
ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ	7
ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ	8
УДИРТГАЛ	9
Судалгааны ажлын үндэслэл	9
Судалгааны ажлын зорилго	10
Судалгааны ажлын зорилт	10
Судалгааны ажлын шинэлэг тал	10
Судалгааны ажлын практик ач холбогдол	10
Судалгаанаас хүлээгдэж буй үр дүн	11
Судалгааны үр дүнг хэлэлцүүлсэн байдал	11
Судалгааны үр дүнг хэвлэн нийтлүүлсэн байдал	12
Эрдэм шинжилгээний өгүүлэл	12
Эрдэм шинжилгээний илтгэл	12
НЭГДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ	13
1.1 Эрэгтэйчүүдийн үргүйдэл, ангилал	13
1.2 Эрэгтэйчүүдийн үргүйдлийн тархалт	15
1.3 У хромосомын бүтэц, үйл ажиллагаа	16
1.4 У хромосомд агуулагдах генүүд	19
1.5 У хромосомын микроделеци	23
1.6 У хромосомын микроделецийн тархалт	24
1.7 У хромосомын микроделецийн эмнэлзүй	24
1.8 У хромосомын микроделецийн удамшил	26
1.9 Бэлгийн дааврууд	27
1.10 Төмсөгний эдийн шинжилгээ	29
ХОЁРДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН БА АРГАЗҮЙ	30
2.1 Судалгааны загвар	30

2.2 Судалгааны хүрээ ба түүвэр.....	30
2.3 Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн.....	30
2.4 Судалгааны мэдээ, материал цуглуулсан аргууд	30
2.5.1 Сорьц цуглуулах аргачлал.....	32
2.5.2 Цуснаас ДНХ ялгах аргачлал	33
2.5.3 У хромосомын микроделецийг ПГУ-ын аргаар илрүүлэх	34
2.5.4 Гель электрофорезийн арга	35
2.6 Үр дүнгийн статистик боловсруулалт	36
ГУРАВДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН	37
3.1 Судалгаанд оролцогчдын талаарх ерөнхий мэдээлэл	37
3.2 Үрийн шингэний шинжилгээний үр дүн	39
3.3 Бэлгийн дааврын шинжилгээний үр дүн.....	40
3.4 Төмсөгний эдийн шинжилгээний үр дүн	42
3.5 У хромосомын микроделеци илрүүлэх шинжилгээний үр дүн	45
3.6 Бэлгийн дааврын үзүүлэлтээр төмсөгний эдээс эр бэлгийн эс гарах эсэхийг урьдчилан таамаглах нь	50
ДӨРӨВДҮГЭЭР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ХЭЛЦЭМЖ.....	52
СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ДҮГНЭЛТ	61
СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ПРАКТИК ЗӨВЛӨМЖ	62
НОМ ЗҮЙ.....	63

НОМ ЗҮЙ

1. Kretzer.D.M. Infertility in Men: Recent Advances and Continuing Controversies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999;84(10).
2. М.Пүрэвтогтох, Г.Батмөнх. Нийгмийн үзүүлэлтийн түүвэр судалгааны мэдээлэлд тулгуурлан үргүйдлийн тархалтыг тогтоох нь. *Эх хүүхдийн эрүүл мэнд-Эрдэм судлал*. 2017;1(1):180-182.
3. Г.Баясгалан. *Монгол эрэгтэйчүүдийн үргүйдлийн эмнэлзүйн зонхилох хэлбэрүүд, эрсдэлт хүчин зүйлс*. Эрхэс, Эрүүл Мэндийн Шинжлэх Ухааны Их сургууль; 2005.
4. Poongothai J , Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J*. 2009.
5. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tuttelmann F, European Academy of A, European Molecular Genetics Quality N. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014;2(1):5-19.
6. Д.Нямсүрэн. *Андрологийн тусламжийн гарын авлага*. Улаанбаатар хот: Мөнхийн үсэг 2018.
7. Barratt CLR, Bjorndahl L, De Jonge CJ, et al. The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance-challenges and future research opportunities. *Human reproduction update*. 2017;23(6):660-680.
8. A. Jungwirth TD, G.R. Dohle, Z. Kopa, C. Krausz, H. Tournaye. EAU Guidelines on Male Infertility. *European Association of Urology*. 2016.
9. Ferlin A, Arredi B, Speltra E, et al. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(3):762-770.
10. Trieu Huyanh RM, Alan Trounson. Selected genetic factors associated with male infertility. *Human Reproduction Update* 2002;8(2):183-198.
11. Liu XH YL, Lu CL, Li R, Zhu XH, Jin HY,Zhang Y, Zhang WX, Gao SH and Qiao J. ART do not increase the risk of Y-chromosome microdeletion in 19 candidate genes at AZF regions. *Reprod Fertil Dev*. 2014;26:778-786.

12. Буянхүү.Т, Оюунэрдэнэ.Р, Мөнхцэцэг.Ж. Андрогены рецепторын генийн CAG болон GGN полиморфизмыг ахимаг насны эрэгтэйчүүдэд тогтоосон дүн. *Эрүүл Мэндийн Шинжлэх Ухаан*. 2013;9(1):23-25.
13. Мөнхцэцэг.Ш. Эрэгтэйчүүдийн насжилтын үеийн гонадотропин даавруудын ялгаралтыг судалсан дүнгээс. *Онош*. 2011;50:50-54.
14. Нансалмаа.Н, Мөнхцэцэг.Ж. Ахимаг насны монгол эрэгтэйчүүдийн чөлөөт тестостерон насны хамаарлыг судалсан дүн. *Монголын анагаах ухаан*. 2011;1.
15. Uranchimeg Dorjpurev, Yuya Yano, Tomoko Taniguchi, Yuri Yamamoto, Ayako Suto, Yu Tanaka, Toshiya Matsuzaki, Toshiyuki Yasui, Minoru Irahara. Effect of semen characteristics on pregnancy rate following intrauterine insemination. *The Journal of Medical Investigation*. 2011;58:127-129.
16. Dhanoa JK, Mukhopadhyay CS, Arora JS. Y-chromosomal genes affecting male fertility: A review. *Veterinary world*. 2016;9(7):783-791.
17. Vogt PH. AZF deletions and Y chromosomal haplogroups: history and update based on sequence. *Human reproduction update*. 2005;11(4):319-336.
18. Douglas Vollrath SF, Adrienne Hilton, Laura G Brown, Peggy Beer-Romero. The Human Y chromosome: A 43-Interval Map Based on Naturally Occurring Deletions. *Science*. 1992;258(5079):52-59.
19. H.Vogt P. Human chromosome deletions in Yq11, AZF candidate genes and male infertility: history and update. *Molecular Human Reproduction*. 1998;4(8):739-744.
20. Helen Skaletsky TK-K, Patrick J. Minx, Holland S. Cordum, LaDeana Hillier, Laura G. Brown, Sjoerd Repping. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *NATURE*. 2003;423.
21. Csilla Krausz. The Y chromosome and male fertility and infertility. *international journal of andrology*. 2003(26):70-75.
22. A Ferlin EM, A Rossi, B Dallapiccola, C Foresta. The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J Med Genet*. 2003(40):18-24.
23. Georgiou I, Syrrou M, Pardalidis N, et al. Genetic and epigenetic risks of intracytoplasmic sperm injection method. *Asian journal of andrology*. 2006;8(6):643-673.

24. P. H. Vogt, S. Kirsch, O. Henegariu¹, P. Hirschmann¹, F. Kieseewetter, F. M. Köhn, W. B. Schill. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Human Molecular Genetics*. 1996;5(7):933-943.
25. Rozen SG, Marszalek JD, Irenze K, et al. AZFc deletions and spermatogenic failure: a population-based survey of 20,000 Y chromosomes. *Am J Hum Genet*. 2012;91(5):890-896.
26. R-L DAI L-KS, X YANG, L-L LI,H-B ZHU. Expansion and De Novo Occurrence of Y Chromosome Microdeletions Occurring via Natural Vertical Transmission in Northeastern China. *The Journal of International Medical Research*. 2012;40:1182 – 1191.
27. Dai.L SL, Yang.X, Li.L. Expansion and De Novo Occurrence of Y Chromosome Microdeletions Occurring via Natural Vertical Transmission in Northeastern China. *The Journal of International Medical Research*. 2012;40:1182-1191.
28. Samli H, Murat Samli M, Solak M. Natural transmission of AZFb Y-chromosomal microdeletion from father to his three sons. *Arch Androl*. 2006;52(6):423-426.
29. Kent-First MG KS, Muallem A, Ofir R, Manor D, Blazer S, First N and Itskovitz-Eldor J. The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. *Mol Hum Reprod*. 1996;2:943-950.
30. Eberhard Neischlag HB, Susan Neischlag. *Andrology*. 3 ed. t London New York: Heidelberg Dordrecht 2010.
31. Abdullah L, Bondagji N. Histopathological patterns of testicular biopsy in male infertility: A retrospective study from a tertiary care center in the western part of Saudi Arabia. *Urol Ann*. 2011;3(1):19-23.
32. Vogt PH. Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Mol Cell Endocrinol*. 2004;224(1-2):1-9.
33. L. Tiepolo OZ. Localization of Factors Controlling Spermatogenesis in the Nonfluorescent Portion of the Human Y Chromosome Long Arm. *Human Genetics*. 1976;34:119-124.
34. S Ghorbian KS, MR Sadeghi, GhR Javadi, K Kamali, N Amirjannati,F Bahreini, H Edalatkhah, HR Khorram Khorshid. The Association between Y Chromosome Microdeletion and Recurrent Pregnancy Loss. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2012;14(6):358-362.
35. Dewan S, Puscheck EE, Coulam CB, Wilcox AJ, Jeyendran RS. Y-chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2006;85(2):441-445.

36. Bor P, Hindkjaer J, Kolvraa S, et al. Screening for Y microdeletions in men with testicular cancer and undescended testis. *J Assist Reprod Genet.* 2006;23(1):41-45.
37. Comhaire FH. *Towards more objectivity in diagnosis and management of male fertility.* United States: Blackwell Scientific Publications; 1987.
38. Csilla Krausz. Clinical aspects of Male infertility. *The Genetic Basis of Male Infertility.* 2000;28:1-21.
39. Yung-Ming Lin Y-HL, Yen-Ni Teng, Chao-Chin Hsu, Johnny Shinn-Nan Lin, Pao-Lin Kuo, M.D. Gene-based screening for Y chromosome deletions in Taiwanese men presenting with spermatogenic failure. *Fertility and Sterility.* 2002;77(5):897-901.
40. Arundhati S. Athalye PFM, Nandkishor J. Naik, Dattatray J. Naik, Smita S. Gavas, Suresh B. Dhumal, Vijay M. Bandkar, Mahadev T. Kawle and Firuza R. Parikh. A Study of Y Chromosome Microdeletions in Infertile Indian Males. *Int J Hum Genet.* 2004;4(3):179-185.
41. Kumtepe Y, Beyazyurek C, Cinar C, et al. A genetic survey of 1935 Turkish men with severe male factor infertility. *Reproductive BioMedicine Online.* 2009;18(4):465-474.
42. Jin Choi S-HS, Chong Won Bak, Se Ra Sung, Tae Ki Yoon, Dong Ryul Lee, Sung Han Shim. Impaired Spermatogenesis and gr/gr Deletions Related to Y Chromosome Haplogroups in Korean Men. *PLOS ONE.* 2012;7(8).
43. Saliminejad K, Sadeghi MR, Kamali K, Amirjannati N, Soltanghoraee H, Khorram Khorshid HR. Discrepancy in the frequency of Y chromosome microdeletions among Iranian infertile men with azoospermia and severe oligozoospermia. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012;16(8):931-934.
44. Akin H, Onay H, Turker E, Ozkinay F. Primary male infertility in Izmir/Turkey: a cytogenetic and molecular study of 187 infertile Turkish patients. *Journal of assisted reproduction and genetics.* 2011;28(5):419-423.
45. Totonchi M, Mohseni Meybodi A, Borjian Boroujeni P, Sedighi Gilani M, Almadani N, Gourabi H. Clinical data for 185 infertile Iranian men with Y-chromosome microdeletion. *Journal of assisted reproduction and genetics.* 2012;29(8):847-853.
46. Zhang YS, Dai RL, Wang RX, Zhang HG, Chen S, Liu RZ. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from northeastern China. *Urology.* 2013;82(3):584-588.
47. Fadlalla Elfateh Ph.D. RWPd, Zhihong Zhang Ph.D., Yuting Jiang M.Sc., Shuang, Chen M.Sc. RLPD. Influence of genetic abnormalities on semen quality and male fertility: A four-year prospective study. *Iran J Reprod Med.* 2014;12(2):95-102.

48. Sachdeva K, Saxena R, Majumdar A, Chadda S, Verma IC. Use of ethnicity-specific sequence tag site markers for Y chromosome microdeletion studies. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2011;15(6):451-459.
49. Mafra FA, Christofolini DM, Bianco B, et al. Chromosomal and molecular abnormalities in a group of Brazilian infertile men with severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia attending an infertility service. *International braz j urol*. 2011;37(2):244-251.
50. Fu L, Xiong DK, Ding XP, et al. Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2012;29(6):521-527.
51. Vogt R. Y-Chromosome Microdeletions and Cytogenetic Findings in Unselected ICSI Candidates at a Danish Fertility Clinic. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2002;19(5):196-199.
52. C.Kamp KH, S.Fernandes, M.Sousa, P.N.Schlegel, A.Mielnik, S.Kleiman, H.Yavetz, W.Krause. High deletion frequency of the complete AZFa sequence in men with Sertoli-cell-only syndrome. *Molecular Human Reproduction*. 2001;7(10):987-994.
53. C. Foresta EM, A. Rossi, M. Rossato, A. Garolla, A. Ferlin. Role of the AZFa candidate genes in male infertility. *J Endocrinol*. 2000;23:646-651.
54. Chao Sun HS, Bruce Birren, Keri Devon, Zhaolan Tang, Sherman Silber, Robert Oates, David C. An azoospermic man with a de novo point mutation in the Y-chromosomal gene USP9Y. *Nature genetics*. 1999;1999(23):429-433.
55. M.Simoni BE. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y chromosomal microdeletions. *International journal of andrology*. 1999;22:292-299.
56. Wang LQ, Huang HF, Jin F, Qian YL, Cheng Q. High frequency of Y chromosome microdeletions in idiopathic azoospermic men with high follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril*. 2005;83(4):1050-1052.
57. Rajeev Kumar RD, Narmada P Gupta, Kiran Kucheria. Serum FSH levels and testicular histology in infertile men with non obstructive azoospermia and Y chromosome microdeletions. *Indian journal of urology*. 2006;22(4):332-336.
58. Choi DK, Gong IH, Hwang JH, Oh JJ, Hong JY. Detection of Y Chromosome Microdeletion is Valuable in the Treatment of Patients With Nonobstructive Azoospermia and Oligoasthenoteratozoospermia: Sperm Retrieval Rate and Birth Rate. *Korean J Urol*. 2013;54(2):111-116.
59. Mehmet Cetinkaya KO. Evaluation of Microdissection Testicular Sperm Extraction Results in Patients with Non-Obstructive Azoospermia: Independent Predictive

- Factors and Best Cutoff Values for Sperm Retrieval. *Sexual dysfunction and infertility*. 2015;12(6):2436-2440.
60. Guler I, Erdem M, Erdem A, et al. Impact of testicular histopathology as a predictor of sperm retrieval and pregnancy outcome in patients with nonobstructive azoospermia: correlation with clinical and hormonal factors. *Andrologia*. 2016;48(7):765-773.
61. Tsai YR, Lan KC, Kung FT, et al. The effect of advanced paternal age on the outcomes of assisted reproductive techniques among patients with azoospermia using cryopreserved testicular spermatozoa. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2013;52(3):351-355.
62. Ramasamy R, Trivedi NN, Reifsnyder JE, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Age does not adversely affect sperm retrieval in men undergoing microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril*. 2014;101(3):653-655.
63. Enatsu N, Miyake H, Chiba K, Fujisawa M. Predictive factors of successful sperm retrieval on microdissection testicular sperm extraction in Japanese men. *Reprod Med Biol*. 2016;15(1):29-33.