

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 616.697-02:616.69-008.6-07:575.224(043.2)

**RACoviȚĂ Stela**

**VARIAȚII GENETICE ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ CU  
AZOOSPERMIE**

**315.02 – BIOLOGIE MOLECULARĂ ȘI GENETICĂ MEDICALĂ**

**Teză de doctor în științe medicale**

CHIȘINĂU, 2023

Teza a fost elaborată la Catedra de biologie moleculară și genetică umană a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

**Conducător științific**

Sprincean Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ. \_\_\_\_\_

**Conducător prin co-tutelă**

Moșin Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ. \_\_\_\_\_

**Membrii comisiei de îndrumare:**

Gorduza Eusebiu Vlad, dr. șt. med., prof. univ. \_\_\_\_\_

Strătilă Mihail, dr. șt. med., conf. cerc. \_\_\_\_\_

Mișina Ana, med. citogenetician. \_\_\_\_\_

Susținerea va avea loc la data de 14.06.2023, ora 14:00, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 29.03.2023 (proces verbal nr.4).

**Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:**

***Președinte:***

Groppa Stanislav, academician al AȘM, dr. hab. șt. med., prof. univ. \_\_\_\_\_

**Membrii:**

Moșin Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ. \_\_\_\_\_

Sprincean Mariana, dr. hab. șt. med., conf. univ. \_\_\_\_\_

Barbova Natalia, dr. șt. med., conf. univ. \_\_\_\_\_

**Referenți oficiali:**

Gorduza Eusebiu Vlad, dr. șt. med., prof. univ., Iași, România \_\_\_\_\_

Opalco Igor, dr. șt. med., conf. cerc. \_\_\_\_\_

Sacără Victoria, dr. hab. șt. biol., conf. cerc. \_\_\_\_\_

**Autor**

Racoviță Stela \_\_\_\_\_

## CUPRINS

LISTA ABREVIERILOR .....	5
LISTA TABELELOR .....	7
LISTA FIGURILOR .....	9
INTRODUCERE .....	11
<b>1. PARTICULARITĂȚILE INFERTILITĂȚII MASCULINE CU AZOOSPERMIE .</b>	<b>16</b>
1.1. Infertilitatea masculină: noțiuni generale, epidemiologie, etiologie .....	16
1.2. Azoospermia: definiție, clasificare, epidemiologie .....	20
1.3. Cauze genetice ale azoospermiei .....	22
<b>2. MATERIALE ȘI METODE DE INVESTIGAȚII .....</b>	<b>40</b>
2.1. Caracteristica generală a studiului: etapele și design-ul studiului, lotul de cercetare .....	40
2.2. Metode de cercetare generale .....	45
2.3. Metode de investigare genetică .....	48
2.4. Tehnologii informaționale și procedee de analiză statistică a rezultatelor .....	54
<b>3. ANALIZA TENDINȚELOR DE MODIFICARE A PARAMETRILOR MATERIALULUI SEMINAL, ANII 2012-2020 .....</b>	<b>55</b>
3.1. Estimarea calității și cantității materialului seminal în întregul eșantion .....	55
3.2. Estimarea calității și cantității materialului seminal în eșantionul cu normozoospermie....	63
3.3. Evaluarea rezultatelor spermogramelor, conform OMS 2010.....	67
<b>4. ASPECTE FENOTIPICE ȘI GENETICE ALE BĂRBAȚILOR CU AZOOSPERMIE .....</b>	<b>69</b>
4.1. Particularitățile fenotipice ale bărbaților azoospermici cu variații ale cariotipului, deleții AZF, mutații CFTR depistate și fără variații genetice depistate .....	69
4.2. Variații cromozomiale la bărbații cu azoospermie diagnosticați prin examenul citogenetic.....	86
4.2.1. Sindromul Klinefelter (SK) 47,XXY.....	90
4.2.3. Sindromul de la Chapelle cu inversie de sex, bărbat 46,XX.....	99

4.2.4. Disgenezia gonadică mixtă la bărbat 45,X/46,XY .....	102
4.2.5. Variații structurale microscopice ale cromozomului Y.....	104
4.2.6. Variații structurale ale cromozomilor autozomi.....	106
4.3. Variații în genele AZF și gena CFTR la pacienții cu azoospermie testați molecular-genetic.....	110
4.3.1. Microdeleții ale cromozomului Y la bărbații cu azoospermie .....	110
4.3.2. Mutații în gena CFTR la bărbații cu azoospermie.....	116
4.4. Consultul genetic în cuplurile infertile datorate azoospermiei în contextul reproducerii asistate .....	118
<b>5. SINTEZA REZULTATELOR STUDIULUI.....</b>	<b>125</b>
5.1. Sinteza rezultatelor studiului tendinței de modificare a parametrilor materialului seminal.....	125
5.2. Sinteza rezultatelor studiului variațiilor genetice la bărbații cu azoospermie .....	128
<b>CONCLUZII GENERALE.....</b>	<b>134</b>
<b>RECOMANDĂRI PRACTICE .....</b>	<b>135</b>
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>136</b>
Anexa 1. Rezultatele volumului, pH, concentrației și nr. total de spermatozoizi, perioada anilor 2012-2020.....	148
Anexa 2. Rezultatele mobilității spermatozoizilor pe perioada anilor 2012-2020.....	149
Anexa 3. Rezultatele funcționalității, viabilității și formelor normale ale spermatozoizilor, anii 2012-2020.....	150
Anexa 4. Rezultatele parametrilor materialului seminal între perioade agregate.....	151
Anexa 5. Evaluarea indicatorilor spermogramelor cu normozoospermie în perioada anilor 2012-2020 .....	152
Anexa 6. Repartizarea rezultatelor evaluării indicatorilor materialului seminal pe criterii diagnostice, anii 2012-2020.....	154
Anexa 7. Confirmările distincțiilor, premiilor, actelor de proprietate intelectuală .....	155
<b>LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE.....</b>	<b>166</b>
<b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII .....</b>	<b>172</b>
<b>CURRICULUM VITAE .....</b>	<b>173</b>

## LISTA ABREVIERILOR

OMS	Organizația Mondială a Sănătății
RM	Republica Moldova
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
FIV	Fertilizarea în Vitro
CBAVD	Absența congenitală bilaterală a canalului deferent
CUAVD	Absența congenitală unilaterală a canalului deferent
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
FSH	Hormonul de Stimulare Foliculară
LH	Hormonul Luteinizant
HH	Hipogonadismul Hipogonadotrop
AR	Androgen Receptor
microTESE	Extragerea microchirurgicală de spermă
TESE	Recuperarea spermei testiculare
PAR	Regiunile pseudoautozomale
STRY	Sex determining region chromosome Y
STS	Sequence-tagged-sites
ADN	Acid Dezoxiribonucleic
ARN	Acid Ribonucleic
Y	Cromozomul Y
X	Cromozomul X
GTG	G banding by Giemsa with the use of trypsin
p	Braț proximal al cromozomului
q	Braț distal al cromozomului
inv	Inversion / Inversie pe cromozom
ins	Insertion / Inserție pe cromozom
t	Translocare reciprocă
rob	Translocare robertsoniană
del	Deletion / Deleție pe cromozom
dup	Duplication / Duplicație pe cromozom
DAZ	Gena - Deleted in Azoospermia
USP9Y	Gena - Ubiquitin Specific Protease on Y chromosome 9

DBY	Gena - Dead Body Y
XIST	Gena - X Inactive Specific Transcript
BPY2	Gena - Basic protein on Y chromosome 2
CDY	Gena - Chromodomain protein, Y chromosome
GOLGA2LY	Gena - Golgi Autoantigen, Golgin Subfamily a2 Like Y
CSPG4LY	Gena - Chondroitin sulfate proteoglycan 4 Like Y
TTY	Gena - Testis-specific transcript
UTY	Gena - Ubiquitous TPR motif on the Y
SCOS	Sertoli cells only Syndrome
PGD	Preimplantation Genetic Diagnosis
FISH	Hibridizare Fluorescentă în Situ
Bp	Base pairs/ Perechi de baze azotate pentru ADN/ARN
EDTA	Etilendiaminotetraacetat
SK	Sindromul Klinefelter
KW	Kruskal-Wallis
R <sup>2</sup>	Regresie liniară
y	y variabila dependentă
gl	Grade libertate
DS	Deviație standard
AZF	Azoospermia Factor
DSD	Tulburarea testiculară de dezvoltare sexuală
NAHR	Recombinare Omologă Non-Alelică
Î 95%	Intervalul de încredere 95%
n	Numărul absolut
TSA	Tulburarea de Spectru Autist
ml	militru
μl	microlitre
mln	milionae
mln/ml	milioane/ml
mln/ejaculat	milioane/ejaculat

## LISTA TABELELOR

Tabelul 1. Clasificarea anomaliilor genetice ce duc la azoospermie la nivelurile post-testiculare (azoospermie obstructivă), pre-testiculare și testiculare (azoospermie non-obstructivă) [13].....	23
Tabelul 2. Prezentarea aberațiilor numerice ale cromozomilor sexuali și impactul lor asupra spermatogenezei [57].....	32
Tabelul 3. Prezentarea tulburărilor spermatogenezei datorate mutațiilor genelor cromozomului Y [57] .....	38
Tabelul 4. Reprezentarea lotului de cercetarea a bărbaților la momentul realizării spermogramei pe ani și grupe de vârste .....	44
Tabelul 5. Repartizarea bărbaților cu azoospermie conform grupelor de vârstă și istoria infertilității .....	45
Tabelul 6. Parametrii și valorile de referință ale spermogramei conform OMS din 2010 [21].....	47
Tabelul 7. Secvențele de primeri ale STSs (sequence-tagged-sites) utilizate în detectarea regiunilor AZF.....	50
Tabelul 8. Fragmentele obținute în urma electroforezei produșilor PCR.....	51
Tabelul 9. Reprezentarea vârstei bărbaților la momentul realizării spermogramei 2012 și 2020 .....	55
Tabelul 10. Regresia liniară simplă a parametrilor spermogramei la întregul eșantion .....	59
Tabelul 11. Regresia liniară simplă a parametrilor spermogramei cu normozoospermie .....	64
Tabelul 12. Repartizarea eșantionului conform rezultatelor spermogramei pe perioade agregate .....	67
Tabelul 13. Rezultatele testelor genetice la bărbații cu azoospermie pe grupe de vârstă.....	70
Tabelul 14. Vârsta și istoria infertilității la bărbații cu azoospermie în lotul de cercetare .....	71
Tabelul 15. Vârsta și istoria infertilității la bărbații azoospermici cu mutații genice și cromozomiale .....	71
Tabelul 16. Parametrii spermogramei la bărbații cu azoospermie repartizate pe loturi de cercetare .....	72
Tabelul 17. Caracteristicile materialului seminal la pacienții cu mutații genice și cromozomiale .....	75
Tabelul 18. Parametrii spermogramei (volum, pH, leucocite) repartizate pe loturile de cercetare raportate la valorile de referință OMS 2010 .....	76
Tabelul 19. Parametrii spermogramei (volum, pH, leucocite) raportate la valorile de referință OMS 2010, la pacienții cu mutații genice .....	76
Tabelul 20. Asocierea bolilor din copilărie ce presupune afectarea fertilității la bărbații cu azoospermie.....	77
Tabelul 21. Asocierea bolilor din copilărie la bărbații cu azoospermie cu patologii genetice.....	77
Tabelul 22. Asocierea unor factori de risc ce pot afecta fertilitatea în loturile cercetate .....	78
Tabelul 23. Repartizarea manifestărilor fenotipice în lotul de cercetare.....	79
Tabelul 24. Analiza manifestărilor fenotipice la pacienții cu patologii genetice .....	80
Tabelul 25. Valorile markerilor endocrini în lotul de cercetare .....	81
Tabelul 26. Caracteristicile markerilor endocrini în loturile de cercetare .....	82
Tabelul 27. Valorile markerilor endocrini la pacienții azoospermici cu variații genetice.....	83
Tabelul 28. Caracteristicile markerilor endocrini la pacienții azoospermici cu mutații genice....	84
Tabelul 29. Frecvența variațiilor cromozomiale la bărbații cu azoospermie pe grupe de vârstă ..	86
Tabelul 30. Clasificarea variațiilor citogenetice la bărbații cu azoospermie corelate cu vârsta.....	87
Tabelul 31. Caracteristica anomaliilor gonozomale în raport cu cele autozomale la pacienții cu azoospermie.....	88
Tabelul 32. Repartizarea anomaliilor cromozomiale gonozomale în raport cu valorile FSH.....	90
Tabelul 33. Caracteristicile clinice și paraclinice la pacienții cu Sindromul Klinefelter .....	91
Tabelul 34. Caracteristica comparativă a valorilor markerilor endocrini ale pacienților cu Sindromul Klinefelter și cu cariotip 46,XY.....	95

Tabelul 35. Repartizarea anomaliilor cromozomiale autozomale la bărbații cu azoospermie conform valorilor FSH .....	106
Tabelul 36. Manifestările fenotipice la pacienții cu microdeleții ale cromozomului Y .....	112
Tabelul 37. Microdeleții ale cromozomului Y la bărbații cu azoospermie corelate la valorile FSH .....	113
Tabelul 38. Markerii cromozomului Y la bărbații cu azoospermie, corelate la valorile FSH.....	114
Tabelul 39. Rezultatele pacienților de la electroforeză pentru microdelețiile Y .....	116
Tabelul 40. Opțiuni de tratament reproductiv utilizate la pacienții cu variații genetice în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată .....	119
Tabelul 41. Opțiuni de tratament reproductiv al pacienților cu microdeleții ale cromozomului Y în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată, adaptat [143, 150, 155] .....	120
Tabelul 42. Opțiuni de tratament reproductiv al pacienților cu anomalii cromozomiale echilibrate în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată, adaptat [96, 157] .....	122
Tabelul 43. Opțiuni de tratament reproductiv al pacienților cu anomalii cromozomiale în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată, adaptat [72, 150] .....	123
Tabelul 44. Prevalența anomaliilor cromozomiale identificate la pacienții cu azoospermie din lotul cercetat comparativ cu alte studii similare .....	129
Tabelul 45. Prevalența microdelețiilor cromozomului Y în acest studiu comparativ cu alte studii similare .....	132



## LISTA FIGURILOR

Figura 1. Procentajul cazurilor de infertilitate din cauza factorului masculin în diferite regiuni ale lumii [11].....	17
Figura 2. Cromozomul Y și genele fertilității. Figura preparată de N. Affara, Universitatea Cambridge, și prezentată la Conferința Y Gene, Edinburgh, Septembrie 1998 [106] .....	37
Figura 3. Designul general al studiului.....	43
Figura 4. Box plot (a) și linia regresiei (b) pentru vârstă în timp la bărbați la momentul realizării spermogramei .....	56
Figura 5. Box plot și linia regresiei pentru: a, b - volum ejaculat; c, d - pH-ul spermei; e, f - concentrația spermatozoizilor; g, h - nr. total spermatozoizi, perioada anilor 2012-2020 .....	58
Figura 6. Box plot și linia regresiei pentru: a, b - mobilitatea progresivă; c, d - concentrația spermatozoizi mobili; e, f - nr. total spermatozoizi mobili; g, h - indexul mobilității, anii 2012-2020 .....	60
Figura 7. Box plot și linia regresiei pentru: a, b - concentrația spermatozoizi funcționali; c, d - nr. total spermatozoizi funcționali; e, f - forme normale, g, h - viabilitate, perioada anilor 2012-2020 .....	62
Figura 8. Linia regresiei: a. volum ejaculat; b. concentrația spermatozoizi; c. nr. total spermatozoizi; d. mobilitatea progresivă a spermatozoizi; e. concentrația/ f. nr. total sperm. mobili; g. concentrația/ h. nr. tot sperm. funcționali, la bărbații cu normozoospermie .....	65
Figura 9. Linia regresiei rezultatelor spermogramei: a. indexul mobilității; b. forme normale ....	66
Figura 10. Distribuția rezultatelor spermogramei pe perioade agregate .....	67
Figura 11. Clasificarea materialului seminal pe criterii diagnostice în perioada anilor 2012- 2020 .....	68
Figura 12. Structura incidenței cauzelor genetice confirmate prin teste molecular-genetice și citogenetice la bărbații cu azoospermie (n=96).....	69
Figura 13. Analiza box plot a duratei de abținere (a) și timpul de lichefiere (b) pe subloturi cercetate .....	73
Figura 14. Analiza box plot a datelor volumului (ml) repartizat pe subplotul 1 de studiu (a, b) și subplotul 2 de studiu (a) .....	73
Figura 15. Analiza box plot a valorilor pH repartizat pe subplotul 1 de studiu (a, b) și subplotul 2 de studiu (a).....	74
Figura 16. Analiza box plot a valorilor concentrației leucocitelor (mln/ml) repartizate pe subplotul 1 de studiu (a, b) și subplotul 2 de studiu (a).....	74
Figura 17. Ponderea hipogonadismului și ginecomastiei la ambele subloturi de cercetare .....	78
Figura 18. Valorile medii și medianelor a: FSH, b: LH la pacienții din ambele loturi de cercetare .....	81
Figura 19. Valorile medii și medianele a: Prolactina, b: Testosteron, la pacienții din ambele loturi de cercetare .....	83
Figura 20. Valorile medii și medianele pentru markerii endocrini la pacienții azoospermici cu cariotip normal și variații genice și cromozomiale.....	85
Figura 21. Ponderea anomaliilor cromozomiale la bărbații cu azoospermie (n=96) .....	86
Figura 22. Analiza box plot a caracteristicilor paraclinice la pacienții azoospermici cu anomalii cromozomiale gonozomale și autozomale a: volum; b: FSH; c: LH; d: Prolactina; e: Testosteron; f: Testosteron liber.....	89
Figura 23. Prevalența manifestărilor clinice la pacienții cu Sindromul Klinefelter .....	90
Figura 24. Structura variantelor citogenetice diagnosticate la pacienții cu Sindromul Klinefelter .....	92
Figura 25. Cariotip 46,XY/47,XXY la pacientul nr. 25, vârsta 31 ani .....	92
Figura 26. Varianta citogenetică forma clasică a Sindromului Klinefelter, 47,XXY: a, b, c, d, e, f 93	
Figura 27. Varianta citogenetică forma clasică a Sindromului Klinefelter, 47,XXY: a, b, c, d .....	94

Figura 28. Valorile medii și medianele pentru FSH, LH, testosteron la pacienții cu SK și 46,XY .....	96
Figura 29. Valorile medii și medianele pentru prolactina la pacienții cu SK și 46,XY .....	96
Figura 30. Cariotip 47,XYY al pacientului cu vârsta de 35 ani .....	99
Figura 31. Rezultatul electroforezei pentru detectarea markerilor Y la bărbatul cu 46,XX.....	101
Figura 32. Cariotip 46,XX în toate celulele analizate la bărbat de 40 ani.....	101
Figura 33. Cariotip mozaic 45,X[3]/46,XY[12] al pacientului cu vârsta 46 ani.....	103
Figura 34. Cariotip 46,Xdel(Y)(q11.21) (Y≤21) al pacientului cu vârsta 36 ani .....	105
Figura 35. Cariotip 46,XYqh+(Y≥18) al pacientului cu vârsta 30 ani.....	105
Figura 36. Cariotip 46,XY,der(5),t(9;5) al pacientului cu vârsta 29 ani .....	107
Figura 37. Cariotip 46,XY,t(1;19)(q23.2;q13.4) al pacientului cu vârsta 35 ani .....	107
Figura 38. Cariotip 45,XY,rob(13;14)(q10;q10) al pacientului cu vârsta 31 ani .....	107
Figura 39. Cariotip 46,XY,inv(9)(p11q12) al pacientului cu vârsta 35 ani.....	108
Figura 40. Cariotip 46,XY,inv(9)(p13q21) al pacientului cu vârsta 31 ani.....	108
Figura 41. Cariotip 46,XY,15ps+ al pacientului cu vârsta 33 ani.....	109
Figura 42. Cariotip 46,XY,22ps+ al pacientului cu vârsta 32 ani.....	109
Figura 43. Cariotip 46,XY,fra(17)(p12) al pacientului cu vârsta 36 ani .....	109
Figura 44. Prevalența microdelețiilor cromozomului Y în raport cu alte cauze genetice diagnosticate la bărbații cu azoospermie .....	110
Figura 45. Diagrama schematică care ilustrează diferite tipuri de deleție a markerilor STS la pacienții cu AZF deleții. +: produs PCR prezent; -: produs PCR lipsă .....	111
Figura 46. Diagrama Venn reprezintă prevalența diferitor tipuri de deleții în regiunea AZF....	111
Figura 47. Rezultatul electroforezei pentru AZF deleții: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7- pacienți cu deleții: 8; 9; 10- control masculin .....	115
Figura 48. Rezultatul electroforezei pentru AZF deleții: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7- pacienți cu deleții: 8; 9; 10- control masculin .....	115
Figura 49. Electroforeograma pentru mutația del F508 în gena CFTR.....	117
Figura 50. Domeniile principale de aplicare pentru care este necesară testarea genetică pentru a îmbunătăți medicina reproductivă .....	118
Figura 51. Algoritm de diagnostic genetic pentru mutații în gena CFTR, microdeleții Y și anomalii cromozomiale la bărbații cu azoospermie .....	124
Figura 52. Forest plot pentru prevalența anomaliilor cromozomiale la pacienții azospermici cercetați comparativ cu alte studii similare .....	130
Figura 53. Forest plot pentru prevalența microdelețiilor cromozomului Y în acest studiu comparativ cu alte studii similare.....	132

## INRODUCERE

### **Actualitatea temei și importanța problemei abordate**

Sănătatea Reproducerii continuă să rămână o prioritate vitală pentru evoluția umană, ce stă la baza sănătății generale a populației, prosperării și dezvoltării omenirii. Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a declarat infertilitatea o problemă globală de sănătate, datorită prevalenței înalte la nivel mondial și, în special, datorită anvergurii consecințelor negative asupra calității vieții [1–4].

Cercetările epidemiologice, la nivel mondial, estimează că aproximativ 15% dintre cuplurile de vârstă reproductivă se confruntă cu probleme legate de sterilitate și infertilitate [5]. În fiecare an, sunt documentate 60-80 de milioane de cupluri ce suferă de infertilitate, afectând toate rasele și etniile, cu toate acestea, majoritatea lor fiind rezidenți din țările în curs de dezvoltare și dezvoltate [6]. Estimările statistice ale Organizației Mondiale a Sănătății demonstrează cruda realitate: unul din fiecare patru cupluri din țările dezvoltate nu poate obține o sarcină, în timp ce în Europa de Vest unul din fiecare șapte cupluri [7].

Infertilitatea este o problemă medicală, economică și socială, care reduce nivelul calității vieții, în special, prin consecințele sale negative din punct de vedere psihosocial. Unele studii psihosociale realizate la cuplurile cu probleme de reproducere au dezvăluit că infertilitatea este o adevărată criză a vieții, ce se caracterizează prin experiențe stresante, inclusiv, frustrări auto-învinovărire și culpabilizare a partenerului, influențând semnificativ stabilitatea cuplului conjugal, care poate conduce la violență în familie și divorț [8]. Mai mult, infertilitatea poate transforma o problemă individualizată de sănătate într-o suferință socială, pentru că infertilitatea interacționează cu o rețea complexă de relații sociale, așteptări sociale și necesități economice, datorate de costurile înalte la tratament [9].

Infertilitatea prezintă o importantă problemă la nivel național de reproducere în contextul în care Republica Moldova se confruntă din ce în ce mai mult cu creșterea adresabilității cuplurilor infertile, scăderii natalității și a sporului natural negativ constatat an de an [10].

Infertilitatea masculină este o problemă medicală complexă în continuă creștere din mai multe motive. Unul din aceste motive este frecvența foarte înaltă, deoarece, din toate cuplurile din întreaga lume ce nu reușesc să conceapă, factorul masculin fiind implicat în aproximativ 50% din cazuri. Unele studii epidemiologice la nivel global argumentează că factorul masculin contribuie la infertilitatea cuplului în mai mult de jumătate de cazuri în unele regiuni din țările dezvoltate.

Creșterea incidenței infertilității masculine în țările dezvoltate fiind datorată și creșterii numărului de cupluri, care solicită pentru tratamente de infertilitate [4, 11]

Fondul infertilității masculine fiind extrem de eterogen, cel mai frecvent fiind cauzată de tulburările de spermatogeneză, clinic manifestată prin azoospermie și oligospermie severă. Azoospermia este identificată la 1% în populația masculină, în timp ce frecvența azoospermiei în populația bărbaților infertili variază de la 10 până la 15% [12]. Factorii genetici explică aproximativ 30% dintre cazurile de infertilitate masculină asociate cu azoospermie [13]. Frecvența înaltă fiind justificată prin implicarea numeroaselor gene în controlul sexualizării și reproducerii. Dintre multiplele cauze genetice implicate în insuficiența spermatogenică, unele din cele mai relevante clinic sunt: anomaliile cromozomiale; microdelețiile cromozomului Y și mutațiile genei CFTR (gena Receptorului Canalului de Clor) [14, 15].

Importanța diagnosticării genetice la bărbații cu azoospermie a crescut semnificativ datorită progreselor în tehnicile de reproducere asistată cum ar fi, injecția intracitoplasmatică de spermă (ICSI) și extragerii microchirurgicale de spermă (microTESE), ce ajută cuplurile infertile să aibă proprii copii biologici.

Aceste evoluții au ridicat problema consecințelor genetice ale ICSI: preocupările legate de potențialul negativ al procedurii invazive și preocupările legate de riscul genetic. Consecințele acestui fapt nu sunt de loc de neglijat, pentru că există riscuri asociate: pierderi de sarcină, copii cu anomalii genetice, descendenți cu probleme de infertilitate [14, 16].

Examenul citogenetic, molecular genetic permite explorarea cauzei infertilității masculine cu azoospermie [6]. Detectarea unui cariotip anormal și a diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre tipul individual de anomalie/polimorfism cromozomial, relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal [16, 17]. Acest lucru permite cuplurilor infertile să ia o decizie în cunoștință de cauză atunci când aleg pentru o reproducere asistată medical. Prin urmare, screening-ul citogenetic și molecular genetic continuă să rămână o bună practică pentru o diagnosticare adecvată, tratament, evaluare și prognostic [16, 18–20].

Lipsa unor norme naționale, pentru abordarea multilaterală a infertilității masculine a justificat motivul de a iniția un studiu multidisciplinar cu profesioniști din domeniul geneticii și medicinei reproductive pentru optimizarea metodelor de reproducere asistată la cuplurile cu azoospermie, pentru indicațiile testării genetice, pentru a gestiona în mod corespunzător un cuplu infertil cu azoospermie. Aceste constatări argumentează actualitatea și necesitatea cercetării

temei, „Variații genetice în infertilitatea masculină cu azoospermie”, pentru medicina contemporană, cât și pentru cuplurile ce se confruntă cu infertilitatea, care doresc să conceapă copii sănătoși.

**Scopul cercetării:** Studiarea aspectelor clinice, paraclinice și a variațiilor genetice la bărbații cu azoospermie în vederea optimizării metodelor de reproducere asistată în cuplurile infertile.

**Pentru realizarea scopului propus au fost stabilite următoarele obiective:**

1. Analiza tendinței de modificare a indicatorilor calitativi și cantitativi a materialului seminal;
2. Evaluarea clinică și paraclinică a bărbaților cu azoospermie, care se adresează în consultul medico-genetic;
3. Testarea citogenetică, molecular-genetică și biochimică a bărbaților cu azoospermie și interpretarea rezultatelor obținute în contextul consultului medico-genetic;
4. Corelarea variațiilor citogenetice și molecular-genetice cu manifestările fenotipice la bărbații cu azoospermie;
5. Optimizarea algoritmului de diagnostic genetic al azoospermiei și metodelor de reproducere asistată în infertilitatea masculină cu azoospermie cauzată de variații cromozomiale, microdeleții Y și mutații CFTR.

**Metodologia generală a cercetării**

Pentru realizarea obiectivelor au fost efectuate două studii științifice. Studiul descriptiv a fost realizat în baza analizei rezultatelor spermogramei  $n=5767$  dintr-un centru de reproducere umană asistată pe parcursul anilor 2012-2020. Acest studiu a permis evaluarea tendinței prin regresia liniară a calității și cantității indicatorilor materialului seminal. Studiul transversal a cuprins evaluarea a  $n=96$  pacienți cu azoospermie, unde au fost utilizate metode clinice și paraclinice: consultul medico-genetic; analiza materialului seminal; evaluări hormonale; metode genetice; metode invazive cum ar fi biopsie testiculară, ICSI, FIV. Studiul citogenetic al anomaliilor cromozomiale de număr, de structură echilibrate, polimorfismelor cromozomiale, de asemenea, molecular genetic pentru depistarea diferitor mutații care cauzează infertilitate la bărbați cu azoospermie inclusiv și corelația acestora cu formele de infertilitate asociate ale acestora.

**Noutatea științifică importantă soluționată**

A fost demonstrată contribuția genetică semnificativă la pacienții cu spermograma sever afectată - azoospermie. Cercetarea a permis identificarea anomaliilor și polimorfismelor cromozomiale, evidențierea unor mutații genice și clasificarea formelor citogenetice și molecular-genetice în corelație cu manifestările fenotipice la pacienții cu infertilitate cauzată de azoospermie.

### **Valoarea aplicativă a cercetării**

În scopul realizării unui diagnostic etiopatogenetic complex al infertilității, bărbații cu azoospermie au fost investigați de o echipă multidisciplinară formată din specialiști în reproducere: ginecologi; urologi; medici geneticieni și citogeneticieni.

Bărbații incluși în investigație au beneficiat de testare a cariotipului pentru evidențierea profilului anomaliilor cromozomiale / polimorfismele cromozomiale, cât și investigarea molecular- genetică pentru identificarea microdelețiilor cromozomului Y, mutațiilor în gena CFTR, implicate în etiologia infertilității masculine, stabilirea corelațiilor acestora cu manifestările fenotipice și a ponderii lor la populația RM.

Au fost inițiate strategii adecvate în consultul bărbaților infertili cu azoospermie, care au inclus toate aspectele privind tipul individual de anomalie, relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic pentru descendenți, oportunitățile de tratament și, la o eventuală sarcină, de diagnostic prenatal.

În contextul intensificării utilizării tehnicilor de reproducere asistată în țara noastră, evaluarea genetică a partenerului masculin infertil este importantă atât pentru selectarea corectă a pacienților pentru acest tratament pentru obținerea rezultatelor maxime, cât și pentru evaluarea riscului genetic. Optimizarea algoritmului de diagnostic genetic în evaluarea bărbaților infertili cu azoospermie cauzate de anomaliile cromozomiale și mutații genice, va fi un suport metodologic în vederea optimizării consilierii genetice și va facilita luarea deciziilor informate atunci când cuplul optează pentru o reproducere asistată medical.

### **Valoarea teoretică a cercetării**

Rezultatele obținute în urma realizării studiului vor contribui la îmbunătățirea cunoștințelor teoretice ale tematicii variațiilor genetice în azoospermie în știința medicală din Republica Moldova. Materialul complex ce are la bază subiectul bărbaților cu infertilitate cauzată de azoospermie, având în vedere interconexiunea dintre contribuția atât anomaliilor și polimorfismelor cromozomiale, cât și mutațiilor genice, cu eficientizarea tehnicilor de reproducere asistată a cuplurilor infertile datorate azoospermiei, poate fi utilizat ca suport de curs pentru catedra de biologie moleculară și genetică umană a USMF „Nicolae Testemițanu”, cât și pentru medicii din domeniul medicinei reproductive.

### **Aprobarea rezultatelor științifice**

Aprobarea rezultatelor obținute a fost realizată în corespundere cu etapele fundamentale ale studiului. A fost obținut avizul pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” pentru realizarea studiului (proces verbal nr. 48, la nr. 60, din data de 12.04.2018).

Rezultatele studiului au fost discutate și aprobate în cadrul ședinței comune a Catedrei de biologie moleculară și genetică umană ale USMF „Nicolae Testemițanu” (procesul verbal nr. 11 din 19.12.2022) și la Seminarul Științific de Profil, 312. Fiziologie, 315. Biochimie și biologie moleculară, specialitățile, 312.01. Fiziologie normală și patologică, 315.01. Biochimie medicală, 315.02. Biologie moleculară și genetica medicală (din 24.02.2023). Aprobarea rezultatelor a fost precum și în cadrul conferințelor și congreselor științifice naționale și internaționale după cum urmează: Conferința Națională de Pediatrie, 2018, – Actualități în Pediatrie. București, România, 2018; Școala Medicală Pediatrică cu participare internațională ediția VI Iași, 2018; Conferință internațională, European Human Genetics, Milano Italia, 2018; Al V-lea Congres de Genetică Medicală cu participare internațională din România, 2018; Conferința științifică anuală a colaboratorilor și studenților USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2018; Al XX-lea Congres SNPCAR Societatea de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și Adolescentului din România, 2019; Conferință Internațională de Pediatrie Bienala Sibiu-Chișinău, România, 2019; Zilele USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2019; The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctor, Chișinău, 2020; Conferința internațională de inventică „Pro Invent”, Cluj-Napoca, România, 2020; A – IV Conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România, 2020; Congresul Consacrat Aniversării a 75-a de la Fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, 2020; Congresul al XXI -lea al SNPCAR, România, 2021; A 13-a Conferință Națională a Asociației Medicilor de Laborator din România, Brașov, 2022; Conferința Internațională de Pediatrie „Actualități în practica pediatrică: provocări și succese”, 2022. Premii de categorie internațională, acordat de Societatea Română de Genetică Medicală, 2019; Laureat al concursului „performanțe în cercetare”, USMF „Nicolae Testemițanu”, 2020; 2 Medalii de Aur, 2 Medalii de Argint, 1 Medalie de Bronz: Saloanele Internaționale de Inventică Specializată, 2021; Bursa de Excelență a Guvernului 2022.

### **Publicații la tema tezei**

Au fost publicate 45 lucrări științifice la subiectul tezei, inclusiv: 16 articole, dintre care 5 în reviste din baze de date internaționale, (1 articol în revistă citată SCOPUS); 11 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, (categoria B+, B, C); 21 teze în lucrările conferințelor și congreselor științifice internaționale și 8 naționale. Au fost obținute: 1 Brevet de invenție; 12 certificate de inovator; 6 acte de implementare. Implementarea rezultatelor a fost înregistrată în procesul științifico-practic în următoarele subdiviziuni: în procesul științifico-didactic al Catedrei de biologie moleculară și genetică umană a USMF „Nicolae Testemițanu”; în Laboratorul de Genetică Moleculară Centrului Medical Repromed; în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului.

# 1. PARTICULARITĂȚILE INFERTILITĂȚII MASCULINE CU AZOOSPERMIE

## 1.1. Infertilitatea masculină: noțiuni generale, epidemiologie, etiologie

Tulburările de reproducere umane (TR) se caracterizează prin incapacitatea unui individ/cuplu de a concepe natural (sterilitate primară), sau prin incapacitatea de a menține o sarcină, sau de a da naștere unui copil viu, sănătos (infertilitate) [21].

Conform Comitetului Internațional pentru Monitorizarea Tehnologiei de Reproducere Asistată și Organizației Mondiale a Sănătății, *Infertilitatea* reprezintă lipsa sarcinii la un cuplu de vârstă fertilă, după un an de raporturi sexuale regulate, fără folosirea mijloacelor anticoncepționale (definiție recomandată atât pentru practica clinică, cât și pentru cercetare) [3, 22, 23].

*Infertilitatea masculină* se referă la incapacitatea unui bărbat de a rezulta sarcina în cuplu la o femeie fertilă. A fost demonstrat că la baza fertilității masculine stă cantitatea și calitatea materialului seminal. Atunci, când cantitatea spermei ejaculate este redusă sau este de slabă calitate, va fi aproape imposibil de a concepe un copil. Conform OMS infertilitatea datorată „factorului masculin” este explicată ca o modificare a concentrației de spermă și / sau a motilității și / sau morfologiei în cel puțin un eșantion de două analize de spermă, colectate la un interval între ele de una și patru săptămâni. Astfel, bărbații care prezintă parametrii spermogramei sub valorile normale, stabilite de OMS, sunt considerați cu probleme de infertilitate [12, 24, 25]

*Azoospermia* este definită ca absența completă a spermatozoizilor în ejaculat care afectează aproximativ 1% din populația masculină și poate fi ușor diagnosticată prin utilizarea unor tehnici simple de microscopie. Deși o lipsă completă de spermatozoizi în ejaculat poate fi un prognostic descurajant pentru pacient, trebuie remarcat faptul că azoospermia nu înseamnă neapărat infertilitate ireversibilă. De exemplu, pacientul poate avea azoospermie obstructivă sau neobstructivă, iar tipul de azoospermie corelează cu gradul de fertilitate [26].

*Oligozoospermia* se caracterizează printr-un număr scăzut de spermatozoizi în materialul seminal. Pentru a fertiliza o femeie, este necesară o cantitate suficientă de spermatozoizi în ejaculat. Conform definiției OMS din anul 2009, dacă numărul de spermatozoizi este mai mic de 15 milioane de spermatozoizi pe mililitru (ml), atunci starea respectivă poartă denumirea de oligospermie. Oligospermia poate fi clasificată în trei categorii:

- Oligozoospermia ușoară, atunci când numărul de spermatozoizi este cuprins între 10 și 15 milioane de spermatozoizi / ml;
- Oligozoospermia moderată este diagnosticată atunci când numărul de spermatozoizi se situează între 5 și 10 milioane de spermatozoizi / ml;



- Oligozoospermia severă atunci când numărul de spermatozoizi este cuprins între 0 și 5 milioane de spermatozoizi / ml [27].

S-a estimat la nivel mondial că circa 7% dintre toți bărbații de vârstă reproductivă sunt infertili, acest număr variază în limitele 2,5-15% în diferite regiuni geografice [11, 28, 29]. În Europa Centrală și de Est numărul bărbaților infertili fiind de la 8 până la 12%, în Australia de 8% până la 9%, Europa de 7,5%, Africa 2,5-4,8% și America de Nord demonstrează rate de infertilitate masculină de 4,5-6% [11, 30]. În multiple surse de specialitate ponderea cuplurilor infertile la nivel global este de 15%, iar în aproximativ jumătate din cazuri sunt datorate factorului masculin. Acest procent, de asemenea, variază în diferite regiuni cu o prevalență mai mare în țările dezvoltate. În Figura 1 sunt reprezentate cazurile de infertilitate masculină la nivel mondial. Astfel, se observă că în Orientul Mijlociu factorul masculin este implicat în 60-70% din cazuri de infertilitate, în Europa Centrală și Est în 55.73%, în America Latină în 52%, în Europa și America de Nord în 50% și în Asia și Africa în jur de 40%. Creșterea incidenței infertilității masculine în țările dezvoltate fiind datorată și creșterii numărului de cupluri care solicită pentru tratamente de infertilitate, cum ar fi injecția intracitoplasmică de spermă (ICSI) și Fertilizarea în Vitro (FIV) [4, 11].

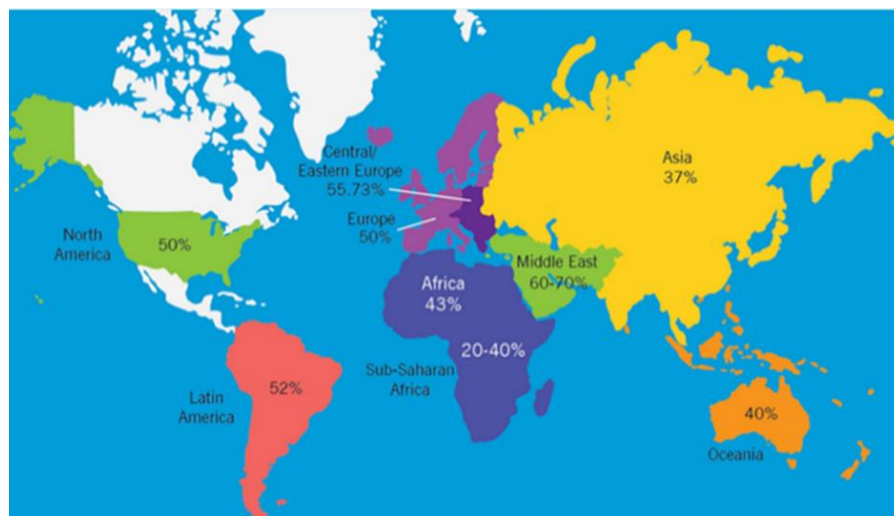


Figura 1. Procentajul cazurilor de infertilitate din cauza factorului masculin în diferite regiuni ale lumii [11]

Analiza situației arată că scăderea fertilității în Republica Moldova se înscrie în tendințele europene generale. De menționat faptul, că actuala situație demografică a țării este rezultatul cumulat al evoluției fertilității, mortalității și migrației externe din ultimele două decenii. Ca urmare, Republica Moldova este printre statele cu cea mai înaltă rată de infertilitate dintre statele europene și din spațiul post - sovietic. S-a estimat că aproximativ 22 de cupluri din 100 nu pot

concepe copii. Statisticile demonstrează o reducere importantă a ratei de fertilitate, valoarea acestui indicator scăzând de la 2,3, în anul 1980, până la 1,26 nașteri per femeie în anul 2020. Conform scenariului actual, odată cu diminuarea progresivă a fertilității, către anul 2035, efectivul populației țării poate să se micșoreze cu 28,4% [31].

Totodată, studierea problemei legate de infertilitate, în special masculină, în Republica Moldova este dificilă din cauza că, la momentul actual, nu există un sistem național de evaluare a adresabilității cuplurilor infertile, iar lipsa indicatorilor naționali face imposibilă estimarea dimensiunii actuale a fenomenului. Tradițional, în țara noastră, pentru servicii medicale în caz de infertilitate apelează femeile, iar bărbații, de obicei, sunt invitați pentru investigații, diagnostic și tratament. Colectarea nesistematică a datelor privind unii indicatori, cum ar fi infertilitatea, natalitatea, afectează capacitatea autorităților publice de identificare a problemelor și necesităților posibile, pentru organizarea și desfășurarea unor măsuri eficiente în domeniul sănătății reproducerii [31].

Infertilitatea este o tulburare a sistemului reproducător extrem de complexă, heterogenă, care afectează atât bărbații, cât și femeile, sau ambii parteneri. Cauzele infertilității pot fi împărțite în patru mari categorii: 1) factorul feminin; 2) factorul masculin; 3) de cuplu, care sunt datorate cumulativ atât infertilității feminine, cât și masculine; 4) infertilitate idiopatică, inexplicabilă. Este greu de atribuit valoarea exactă pentru fiecare dintre aceste categorii. Cu toate că, indicele menționat este raportat în general, circa 40% din cazuri de infertilitate se datorează unei cauze feminine, 40% - cauze masculine, iar 20% - anomaliilor detectate la ambii parteneri [18, 32]. În circa 25-30% din cupluri, nu este identificată nici o cauză, iar infertilitatea este considerată idiopatică [33, 34]. Este evident că, evaluarea potențialului de fertilitate al partenerului masculin reprezintă o parte importantă în evaluarea unui cuplu, care nu a reușit să atingă sarcina. Această evaluare trebuie realizată simultan cu evaluarea partenerului feminin, dar în prezent ea nu este efectuată în cel puțin 18% din cazuri [28].

Termenul de infertilitate masculină nu constituie un sindrom clinic definit, ci, mai degrabă, o colecție de condiții eterogene. Cel mai frecvent, în proporție de 75%, infertilitatea masculină este cauzată de tulburările de spermatogeneză, clinic manifestată prin astenozoospermie, teratozoospermie, oligospermie și azoospermie [35]. Cele mai semnificative dintre acestea sunt concentrația scăzută a spermatozoizilor (oligospermie), motilitatea scăzută a spermatozoizilor (astenospermie) și morfologia anormală a spermatozoizilor (teratospermie). Conform surselor de specialitate, 90% din problemele de infertilitate masculină sunt legate de numărul spermatozoizilor. Volumul de spermă și alți markeri seminali ai funcției epididimale, prostatice și a veziculei seminale, sunt mai puțin asociați cu infertilitatea [36–38]. Etiologia producerii și

funcției de spermă afectată poate fi legată de diferiți factori congenitali sau dobândiți, care acționează la nivel pre-testicular, post-testicular sau direct la nivel testicular. În pofida multor tehnici avansate care au îmbunătățit considerabil posibilitățile de diagnostic, etiopatogeneza eșecului testicular rămâne necunoscută în proporție de 50% din cazuri și este denumită infertilitate idiopatică [39]. Prevalența la nivel pre-testicular afectează bărbații în proporție de 5-10%. Această categorie de infertilitate include în principal două tipuri de afecțiuni patologice: Hipogonadismul hipogonadotrop (HH) și tulburări de copulație (disfuncție erectilă, tulburări de ejaculare). În proporție de 10-20% sunt detectate anomalii la nivel testicular, din care cele mai frecvente sunt leziunile obstructive / neobstructive ale tactului seminal, infecții și boli inflamatorii ale glandelor accesorii și infertilitate autoimună. De menționat, că un număr mare de patologii pot conduce la o insuficiență testiculară ce prevalează la bărbați în proporție de 65-75%. În această categorie se includ afecțiuni congenitale (criptorhidism, în special, forme bilaterale, anorhidie bilaterală); afecțiuni de natură vasculară, torsiune testiculară de cordon, varicocel, forme iatrogene (cauzate de medicamente gonadotoxice, chimio/radioterapie, chirurgie inghinală anterioară); unele boli provocate de factorii patogeni cum ar fi epididimita, orhita, hidrocelul [29, 40].

În fiecare dintre cele trei categorii de la nivel pre-testicular, testicular și post-testicular pot fi identificați factori genetici, fapt care se explică prin implicarea numărului impunător de gene (circa 2.000), care se expresează în țesutul testicular și controlează diferențierea organelor sexuale, homeostazia hormonală, spermatogeneza [29]. Spermatogeneza acoperă o rețea complexă a proceselor care apar în tubii seminiferi ai testiculelor. Procesele ulterioare ale spermatogenezei pot fi descrise ca: (I) proliferarea spermatogoniei; (II) diferențierea spermatogoniilor în spermatoците; (III) diviziunea meiotică a spermatidelor rotunde; și (IV) eliberarea de spermatozoizi maturi extrem de specializați în lumenul tubular testicular [24]. Ținând cont de numărul impunător de gene implicate în spermatogeneză, din care doar o mică parte au fost identificate și analizate, etiologia infertilității idiopatice cel mai probabil are o origine genetică [41]. Conform platformei Online de Moștenire Mendeliană la Om (OMIM) sunt peste 200 de afecțiuni genetice asociate cu infertilitate masculină, de la cele mai frecvente prezentări clinice ale infertilității, până la cele mai rare și complexe sindroame, în care semnele și simptomele sunt dincolo de probleme de reproducere. Potrivit unui studiu efectuat în anul 2002 de către o echipă de cercetători din Olanda, care au evaluat riscul genetic în diverse patologii implicate în infertilitatea masculină pe un eșantion de 150 de bărbați cu spermograma sever afectată, 21,7% din bărbații cu criptorhidism, 20% cu varicocel, 66% cu absența congenitală bilaterală a canalului deferent (CBAVD) și 31.7% fără semne clinice clare au prezentat o cauză genetică [42].

Se presupune că aceste anomalii idiopatice ale spermatozoizilor sunt cauzate, de asemenea, de mai mulți factori, inclusiv, stresul oxidativ, anomalii genetice/epigenetice necunoscute și perturbări endocrine cauzate de factorii de mediu [42]. Motilitatea spermei depinde de constituția genetică a individului/celulelor progenitoare ale spermatozoizilor, ce codifică calitatea microtubulilor, mitocondriilor care oferă energie pentru mișcările spermatozoizilor [43]. Majoritatea modificărilor ADN-ului, ce au loc în procesul de tranzit de la testicule la ejaculare, sunt cauzate de stresul oxidativ, care provoacă deteriorarea ADN-ului bicatenar. Stresul oxidativ face parte din categoria factorilor socio-psiho-comportamentali, cum ar fi dieta deficitară, utilizarea tehnologiilor timp îndelungat. Aici se adaugă stresul psihologic, fumatul și consumul de alcool, care sunt factori de risc modificabili ale numărului de spermatozoizi mobili, ceea ce atrage o atenție deosebită și ar necesita să fie luat în considerare în procesul de culegere a istoricului medical, dar pentru care, în prezent, dovada științifică nu este pe deplin argumentată [44]. În unele cazuri, un stil de viață sănătos, tratamentul etiologic corect poate îmbunătăți fertilitatea bărbaților. Cu toate acestea, în cazul în care nu se reușește, cuplurile pot recurge la tehnologiile de reproducere asistată (TRA) cum ar fi FIV cu ICSI, pentru a obține sarcina.

## **1.2. Azoospermia: definiție, clasificare, epidemiologie**

Lipsa totală a spermatozoizilor din lichidul seminal recoltat sau ejaculat este denumită azoospermie, fiind și cea mai severă formă de infertilitate masculină. Azoospermia este identificată la 1 % din populația masculină, în timp ce frecvența azoospermiei în populația bărbaților infertili variază de la 10 până la 15% [12–14, 45]. În Republica Moldova, frecvența bărbaților cu azoospermie în rândul populației infertile, în perioada anilor 2012-2018, este de 4,3% [46]. Anterior, bărbații cu azoospermie au fost clasificați cu infertilitate ireversibilă, și utilizare unui donator de spermatozoizi a fost considerată una dintre cele mai bune opțiuni de concepere. În prezent, datorită tehnicilor avansate de reproducere asistată, cum ar fi ICSI și TESE, bărbații cu azoospermia chiar și cu cea mai severă formă de infertilitate pot avea proprii copii biologici.

Diagnosticul inițial al azoospermiei este confirmat atunci când nu se pot detecta spermatozoizi în lichidul seminal centrifugat la examenul microscopic de rezoluție mare în cel puțin de două ori consecutive, la un interval de minim 2 săptămâni. Conform Manualului de laborator pentru examinarea și prelucrarea materialului seminal uman al OMS din 2010, recomandă centrifugarea lichidului seminal timp de 15 minute la o viteză de centrifugare, de preferință, 3000g sau mai mare [47].

Pentru elucidarea cauzei azoospermiei, se va recurge ulterior la o examinare medicală inițială, ce va include istoricul medical și sexual detaliat, evaluarea profilului hormonal, examinarea fizică

a organelor genitale externe. Istoricul relevant include: 1) fertilitate anterioară; 2) boli din copilărie, cum ar fi orhită virală sau criptorhidie; 3) traumatisme genitale sau intervenții chirurgicale anterioare în regiunea pelviană sau inghinală; 4) infecții precum epididimita sau uretrita; 5) expuneri la gonadotoxine, cum ar fi radioterapia anterioară / chimioterapia, febra recentă sau expunerea la căldură și medicamente curente; și 6) istoric familial de anomalii congenitale la naștere, retard mental, tulburări de reproducere sau fibroză chistică.

Examenul fizic evaluează: 1) dimensiunea și consistența testiculelor; 2) caracteristicile sexuale secundare, inclusiv habitusul corporal, distribuția părului pe întreg corpul, prezența ginecomastiei; 3) prezența congenitală bilaterală a canalului deferent; 4) consistența epididimidelor; 5) prezența unui varicocel; 6) examinarea clinică a prostatei.

Evaluarea hormonală inițială include măsurarea nivelului de Testosteron seric și Hormonului Foliculostimulant (FSH) [45]. În 70% din bărbați examinați, această evaluare preliminară va identifica cauza, în restul de 30% dintre bărbați vor necesita testări suplimentare, cum ar fi testarea genetică pentru a elucida cauza de bază [14].

Evaluarea cauzei bărbaților cu azoospermia are ca scop: 1) să stabilească dacă cauza azoospermiei este susceptibilă terapiei; 2) să identifice eventualele opțiuni adecvate de tratament; și 3) să stabilească dacă este o tulburare medicală semnificativă ce cauzează azoospermia [12].

Deși există numeroase cauze ale azoospermiei, etiologiile acestei afecțiuni se încadrează în două categorii generale: azoospermia obstructivă și azoospermia non-obstructivă. Azoospermia obstructivă, care cuprinde 40% din cazurile de azoospermie, se referă la cauzele post-testiculare, și este însoțită, de obicei, de conservarea funcției exocrine și endocrine normale, cu spermatogeneza normală în testicule. Azoospermia obstructivă este produsă de obstrucții ale epididimului sau ale canalelor deferente care împiedică spermatozoizii să ajungă la orice locație a tractului reproducător masculin. Azoospermia non-obstructivă reprezintă 60% din cazurile de azoospermie și este clasificată în două mari categorii: pre-testiculară și testiculară. Cauzele azoospermiei pre-testiculare sunt, relativ, rare și includ anomalii endocrine, care afectează negativ asupra spermatogenezei (insuficiență testiculară secundară). În mare parte, ele sunt datorate Hipogonadismului Hipogonadotrop congenital cu scădere a nivelurilor hormonului LH și FSH, cu dimensiuni mici în volum ale testiculelor. Cauzele azoospermiei testiculare (insuficiență testiculară primară) implică tulburări intrinseci ale spermatogenezei în interiorul testiculelor [12]. Azoospermia non-obstructivă rezultată de insuficiență testiculară primară se caracterizează prin valori crescute ale hormonului LH, și FSH, testicule mici în dimensiuni ce afectează până la 10% dintre bărbații, care prezintă infertilitate. Fiecare etiologie a azoospermiei este asociată cu un

prognostic diferit, de la restabilirea producției de spermatozoizi în tractul reproducător, până la prezența sau lipsa spermatozoizilor în țesutul testicular [24].

De remarcat că, o parte din anomalii pre-testiculare și post-testiculare care provoacă azoospermie pot fi reversibile, fapt care face posibilă refacerea potențialului de fertilitate. Totodată, tulburările testiculare, în mare parte, sunt ireversibile, iar ratele de succes ale intervențiilor asociate cu anomalii testiculare intrinseci sunt, semnificativ, mai mici. Eșecul testicular primar în combinație cu azoospermia, este cel mai bine gestionat prin recoltarea spermei testiculare pentru o eventuală procedură ICSI. Cu toate acestea, etiologia exactă ar trebui să fie determinată în fiecare caz separat, iar tratamentul poate îmbunătăți considerabil ratele de succes ale recuperării spermei [12].

Azoospermia non-obstructivă prezintă o etiologie heterogenă dintr-o multitudine de factori, cum ar fi: temperatura înaltă, radiațiile, medicamentele, varicocelul, infecțiile, cancerul etc. Dintre cauzele multiple, etiologiile genetice contribuie semnificativ la dezvoltarea acestei afecțiuni în 21-29% din cazuri, în timp ce 12-41% din cazurile azoospermice sunt idiopatice și cel mai probabil legate de factori genetici necunoscuți. Aceste defecte genetice pot duce la o absență totală de spermatogeneză numită și „Sindromul Celulelor Sertoli” (SCO) sau o oprire de maturizare a spermatogenezei [25, 48].

### **1.3. Cauze genetice ale azoospermiei**

Bărbații cu azoospermie prezintă cel mai mare risc de a fi purtători de anomalii genetice (25%), iar acest risc scade progresiv odată cu creșterea formării de spermatozoizi (Tabelul 1). În epoca tehnologiilor de reproducere asistată, în care sunt eliminate barierele naturale pentru fertilizarea ovulelor, definirea defectului genetic care stă la baza infertilității are și mai multă relevanță decât înaintea acestor tehnologii. Diagnosticarea unei cauze genetice de infertilitate are o semnificație clinică evidentă, deoarece ar putea avea implicații asupra sănătății reproductive și a sănătății generale a pacientului și a copiilor săi [49, 50]

A fost argumentat faptul că, pacienții cu număr redus de spermatozoizi și azoospermie non-obstructivă prezintă un risc crescut pentru anomaliile cromozomiale. Din datele prezentate de mai mulți autori, prevalența anomaliilor cromozomiale în populația generală a bărbaților infertili variază de la 2% până la 7%, ceea ce reprezintă o creștere de 8-10 ori, în comparație cu grupul de nou-născuți neselectați [49].

Tabelul 1. Clasificarea anomaliilor genetice ce duc la azoospermie la nivelurile post-testiculare (azoospermie obstructivă), pre-testiculare și testiculare (azoospermie non-obstructivă) [13]

<b>Azoospermia Obstructivă din Cauză genetică</b>
Fibroza Chistică (CFTR)
Absența congenitală bilaterală a canalului deferent (CBAVD)
Absența congenitală unilaterală a canalului deferent (CUAVD)
Obstrucție epididimală bilaterală congenitală și Vasa normală
Sindromul Young
<b>Azoospermia Non-obstructivă din Cauză genetică, la nivel pre-testicular</b>
<i>Hipogonadismul Hipogonadotrop hipotalamic</i>
Hipogonadismul Hipogonadotrop Congenital
Hipogonadismul Hipogonadotrop hipotalamic genetic cu debut la adulți
<i>Tulburări hipofizare asociate cu hipogonadismul</i>
Deficitul generalizat de hormonul hipofizar anterior
Deficiență selectivă de gonadotropină
<b>Azoospermia Non-obstructivă din Cauză genetică, la nivel testicular</b>
<i>Afectarea Spermatogenezei și a producției de androgeni</i>
Sindromul Klinefelter
Sindromul XX la bărbați
Mutație X-lincată în gena USP26
Mutație X-lincată în gena SOX3
Anorchia bilaterală
Sindromul Noonan
Mozaicism 45 X / 46XY (disgeneză gonadală mixtă)
<i>Afectarea spermatogenezei</i>
Microdeleții ale cromozomului Y
Translocații ale cromozomilor autozomi
Boli monogenice
Boli multifactoriale (ex. Criptoorhidism)
<i>Afectarea producției sau acțiunii de androgeni</i>
Mutația Receptorului Androgenic (AR)
Proteina de reglare acută steroidogenă Mutația StAR
Deficiență 3BHSD tip 2
Mutația SRD5A2
<i>Disfuncții ale căilor de reglementare ale celulelor</i>
<i>Defecte epigenetice</i>
<i>Anomalii genetice la nivelul celulelor germinale primordiale</i>

În grupurile de pacienți cu oligozoospermie moderată, anomaliile cromozomiale sunt detectate în aproximativ 4% [51]. În timp ce la pacienții azoospermici prevalența variațiilor cromozomiale a fost raportată între 15% și 25%, în funcție de subgrup a bărbaților azoospermici studiați [52]. Frecvența anomaliilor cromozomiale este invers corelată cu concentrația de spermatozoizi. Datorită frecvenței înalte a anomaliilor cromozomiale în rândurilor bărbaților cu azoospermie non-obstructivă și oligozoospermie moderată, cariotipul este primul test genetic care trebuie efectuat la pacienții cu tulburări de spermatogeneză cantitative. Adițional, acest test genetic

este indicat bărbaților cu istoric familial de avorturi recurente, malformații, tulburări cognitive de dezvoltare sau infertilitate indiferent de concentrația de spermă [51].

Anomaliile cromozomiale detectate prin analiza cariotipului la bărbații infertili pot fi numerice sau structurale, cu implicarea cromozomilor de sex sau autozomi [5, 50]. Multitudinea cauzelor cromozomiale ale azoospermiei este redată în următoarea clasificare.

### **Clasificarea cauzelor cromozomiale ale infertilității masculine/azoospermie**

#### Aberații cromozomiale

##### 1. Cromozomii sexuali

- 47,XXY (sindromul Klinefelter)
- 47,XYY și alte YY-aneuploidii
- 46,XX la bărbați (Sindromul de la Chapelle)
- 45,X/46,XY Disgenezia gonadală mixtă
- Aberații structurale ale cromozomului Y
  - Deleții
  - Cromozom Inelar
  - Izocromozom
  - Inversii
  - Translocații

##### 2. Autozomi

- Translocații (Reciproce, Robertsoniene)
- Inversii
- Alte variații structurale (Extra sateliți, markeri cromozomiali)

##### 3. Polimorfisme cromozomiale

- Yq+
- Creșterea/reducerea pericentromerică a heterocromatinei
- Sateliți de dimensiuni mari/duplicații pe cromozomii acrocentrici [20].

Cariotipurile anormale pot avea consecințe clinice pentru pacienții înșiși, precum și pentru potențialii urmași ai lor [50]. În majoritatea cazurilor, se consideră că modificările structurale și numerice cromozomiale pot cauza defecte spermatogene prin interferența lor cu sinapsa cromozomilor în timpul meiozei. În sprijinul acestei ipoteze, rezultatele studiilor efectuate pe șoareci au arătat că regiunile asinaptice ale cromozomilor pot declanșa mecanismul de control al meiozei pentru a elimina spermatocitele. Alte mecanisme patogene potențiale sunt legate de



efectele directe asupra expresiei genelor în cazul când genele sunt ținte ale rearanjărilor cromozomiale (cum ar fi punctele de întrerupere, duplicări și deleții). Aceste rearanjări ar putea elimina promotorii sau întrerupe secvențele genelor implicate în spermatogeneză. Anomaliile cromozomiale, în special, cele ce implică rearanjări cromozomiale echilibrate, sunt asociate cu creșterea riscului de avort sau nașterea copiilor cu anomalii cromozomiale. Riscul unui cariotip neechilibrat depinde de comportamentul de segregare a cromozomilor derivați în timpul meiozei, de dimensiunea și natura segmentului cromozomial translocat sau inversat [49].

### **Aneuploidii cromozomiale: 47,XXY Sindromul Klinefelter; 46,XX; 47,XYY; 45,X/46,XY**

Anomaliile cromozomiale de număr ale cromozomilor sexuali sunt cele mai frecvente la bărbații azoospermici. Cea mai frecventă anomalie cromozomială gonozomală în azoospermia non-obstructivă este Sindromul Klinefelter, în timp ce anomaliile structurale autosomale (translocații și inversii) sunt mai frecvente la bărbații cu oligozoospermie. Frecvența sindromului Klinefelter este de 1:500 până la 1:1.000 bărbați (Genetics Home Reference) și în rândul pacienților infertili de 10-15% dintre azoospermici și 2-5% din bărbații oligozoospermici au raportat acest sindrom [35]. Se estimează că, sindromul Klinefelter provoacă 1-3% din totalul cazurilor de infertilitate masculină [53].

Sindromul Klinefelter este o anomalie cromozomială gonozomală cauzată de prezența unui sau mai multor cromozomi X suplimentari, de obicei, dobândiți prin non-disjuncție în timpul gametogenezei materne sau paterne [54, 55]. Pentru prima dată a fost descris de Harry Klinefelter în 1942, ca o afecțiune caracterizată prin ginecomastie, hipogonadism hipergonadotrop și infertilitate datorată azoospermiei, dar cu variații semnificative în fenotip [56, 57]. În anul 1959, Jacobs Strong a constatat prezența cromozomului X suplimentar (22 perechi de autozomi, doi cromozomi X și un cromozom Y) în cariotipul pacienților și a descris setul de cromozomi al sindromului Klinefelter. Ulterior, în 1965, Jacobs și Townes au cercetat și au descris diferite variante de modificări ale cromozomilor sexuali în cazul manifestărilor clinice a acestei patologii [58].

Aproximativ 80-90% dintre pacienții cu sindromul Klinefelter prezintă un cariotip 47,XXY uniform – forma clasică, în care este prezent un cromozom X suplimentar în toate compartimentele somatice și ale celulelor germinale. Restul 10-20% prezintă cromozomi X supranumerari, cum ar fi (48,XXXY; 48,XXYY; 49,XXXXY), sau mozaicism 46,XY/47,XXY, sau cu implicarea anomaliilor de structură ale cromozomului X [53, 55, 59, 60].

Sindromul Klinefelter prezintă heterogenitate atât citogenetică, cât și fenotipică. Semnele și apariția simptomelor depind și de vârsta pacienților. În plus, fenotipul tinde să se înrăutățească

cu vârsta înaintată. Studiarea particularităților fenotipice în diferite perioade ontogenetice de dezvoltare, prepubertară, pubertară permit identificarea semnelor sugestive pentru diagnosticarea sindromul Klinefelter [61]. Deși au trecut mai mulți ani de la descoperirea patologiei, în ciuda progresului pe care l-a făcut genetica medicală, datele din literatură confirmă faptul că sindromul Klinefelter este pe scară largă subdiagnosticat, din cauza fenotipului variabil și a caracterizării insuficiente a sindromului. Conform estimărilor lui Abramsky și Chapple, până la 65% din pacienții cu sindromul Klinefelter nu sunt niciodată diagnosticați, în timp ce 10% dintre cei afectați sunt diagnosticați prenatal și doar 25% sunt diagnosticați în prepubertate și pubertate sau la vârsta adultă. Mulți bărbați cu acest sindrom sunt diagnosticați doar la vârsta adultă din cauza infertilității, hipogonadismului, azoospermiei. Cauza infertilității fiind motivul principal al adresării pacienților la clinicile de reproducere asistată [53]. Doar un procentaj mic al fetoșilor cu sindromul Klinefelter sunt diagnosticați prenatal, diagnosticarea fiind posibilă doar după examenul citogenetic a cariotipului fetal în urma amniocentezei datorită vârstei avansate a mamei. Până în prezent, semne ecografice sau markeri serici nu sunt sugestive pentru sindromul Klinefelter, ceea ce înseamnă că nu există un mod eficient de a examina populația prenatal, în afară de analiza cariotipului.

În copilărie, sindromul Klinefelter poate fi suspectat datorită taliei înalte, aspectului gracil, prezenței micropenisului, întârzierii vorbirii, dificultății de adaptare și de învățare la școală. Copiii cu cariotipul 47,XXY pot prezenta un hipogonadism, iar reducerea creșterii penisului în copilăria timpurie poate indica deficitul de androgeni.

La începutul pubertății la băieții cu sindromul Klinefelter, testicule cresc, inițial, la aproximativ 4 ml în volum și după aceea se micșorează la dimensiunea patologică a adulților mai mică de 4 ml. Nivelurile de FSH, LH și testosteron sunt în normă în timpul perioadei prepubertate la băieții cu sindromul Klinefelter, dar prezintă o creștere a FSH și LH și o scădere a testosteronului după debutul pubertății [62]. Diagnosticarea sindromului în această perioadă este importantă pentru conservarea fertilității și inițierea înlocuirii de androgeni, deoarece la începutul pubertății există posibilitatea recuperării spermatozoizilor din ejaculat sau din țesutul testicular prin TESE. În etapa intermediară de pubertate, apar modificări progresive tubulare, cum ar fi apoptoza celulelor germinative și scleroza, de asemenea, hialinizarea tubilor seminiferi [63].

În perioada postpubertară, principalele semne clinice ale sindromului Klinefelter în forma sa clasică, sunt infertilitatea, hipogonadismul hipergonadotrofic și ginecomastia. Înlocuirea celulelor testiculare cu țesut fibros determină: absența secreției de testosteron; azoospermie; hipoplazie testiculară. Azoospermia în sindromul Klinefelter este consecința degenerării celulelor germinale progresive, începând de la mijlocul pubertății, perioadă critică în care funcționează și

celulele Sertoli în asociere cu o fibroză extensivă și hialinizarea tubilor seminiferi și a hiperplaziei interstițiului și Celulele Leydig [60, 61].

Severitatea tabloului clinic în sindromul Klinefelter fiind direct proporțională cu numărul cromozomilor X suplimentari. Prezența unui cromozom suplimentar poate provoca niveluri mai ridicate de exprimare a genelor și de produse genice la diferite niveluri. De asemenea, modelul de interacțiune al proteinelor codificate de cromozomul suplimentar poate influența severitatea unei trisomii. Genele de pe cromozomii X suplimentari sunt inactivate, prin mecanismul epigenetic de inactivarea a unuia din cromozomii X sau heterocromatinizare. Acest mecanism a fost propus de Mary Lyon în 1961, motiv pentru care este cunoscut și sub numele de lionizare. Regulatorul principal în cadrul acestui proces este ARN-ul lung non-codificator XIST (Gene - X Inactive Specific Transcript), care se localizează în regiunea cromozomului X, responsabil pentru inactivarea cromozomului X în cis și silențierea genelor [64]. Inactivarea cromozomului X compensează intens dozarea suplimentară a genelor cromozomului X la bărbații Klinefelter și, probabil, cresc șansele de supraviețuire în comparație cu alte aneuploidii [65] [66]. Dar în mai mult de 15% scapă procesul de inactivare inclusiv și din regiunile pseudoautozomale PAR1 și PAR2, astfel, o parte din gene rămân funcțional-active pe cromozomul X inactivat [65]. Mai ales, evadarea genelor localizate în regiunea PAR a cromozomului X este importantă pentru pacienții Klinefelter, deoarece acest lucru determină prezența a trei copii active. O explicație a acestui fenomen ar fi faptul că, majoritatea genelor din regiunea PAR sunt omoloage pe cromozomul Y unde se realizează recombinația dintre cromozomul X și Y [67]. Genele din regiunea PAR, cu o extindere de 2Mb, cuprinsă între Xp22- pter sunt: gena STS, care codifică steroid-sulfataza; gena MIC-2, din vecinătatea regiunii pseudoautozomale; genele DXS, U23E, UBEI, din regiunea proximală a brațului scurt; gena RPS4X, care codifică proteinele ribozomale S4, din regiunea proximală a brațului lung [68]. Au fost demonstrate epigenetic în limfocitele de sânge la evadarea genelor SHOX, PCGH11XY și SYBL1, din regiunea PAR, la pacienții Klinefelter [67]. Se determină un dezechilibru genic printr-un nivel mai ridicat de exprimare a genelor, inclusiv celor autozomale, care poate compromite funcția testiculară sau poate influența procesul meiotic, jucând un rol important în patogeneza acestui sindrom [65] Astfel, prezenta în exces a unora din genele de pe cromozomul X determină anomalii în formarea testiculelor (disgenezie testiculară) cu lipsa secreției de hormoni androgeni (hormoni sexuali masculini) și absența producerii de spermatozoizi (azoospermie) [50, 55, 56].

Sindromul Klinefelter se manifestă foarte variabil chiar în formele omogene 47,XXY. Studiile pe diverse loturi arată că circa 99% din pacienți prezintă hipogonadism și infertilitate. Excesul cromozomului X determină un dezechilibru genic variabil: 1) cu toate că, ca și în cazul

cariotipului 46,XX cel de al doilea cromozom X la bărbații 47,XXY se supune inactivării - 60% din gene se inactivează întotdeauna, 25% se inactivează variabil și 15% din gene scapă de inactivare (inclusiv și genele pseudoautosomale din regiunile Xpter și Xqter), ce explică manifestările variabile a anomaliilor scheletice, dificultăți psiho-emoționale, anomalii cardiace, etc. la persoanele cu Klinefelter; 2) inactivarea unuia din cromozomii X supranumerari la indivizii 47,XXY este aleatorie, contribuția alelelor maternelor și paternelor ar fi echilibrată, dar studiile demonstrează că există un dezechilibru între X matern inactivat și cel patern, astfel, între alelele maternelor și paternelor ce pot prezenta variații; 3) în regiunea Xq11-12 este localizată gena AR, ce prezintă polimorfism determinat de expansiunea repetării trinucleotidului CAG, ce explică sensibilitatea diferită la testosteron, concentrația diferită a androgenilor și disfuncția variabilă a testiculelor la diferiți pacienți; 4) circa 100 gene X lincate se expresează în testicule, iar dezechilibrul dozajului genic explică hipogonadismul, reducerea spermatogenezei și infertilitatea; unii pacienți prezintă atrofia totală a tubilor seminiferi, alți pacienți - prezența concomitentă a tubilor seminiferi normali și atrofici sau, tubii primitivi embrionari fără lumen sau, fără șansă de spermatogeneză completă; testiculele se caracterizează prin pierderea celulelor germinale, hiperplazia celulelor Sertoli și Leding [67].

Sindromul Klinefelter a fost considerat de mult timp ca un model de sterilitate primară și definitivă a bărbaților, mai ales în forma sa non-mozaică, cu cariotip omogen 47,XXY, reprezentând 85% din cazuri. Pronosticul fiind mai optimist la pacienții cu mozaic cromozomial unde se consideră că există probabilitatea în rare cazuri să fie păstrată fertilitatea, existând posibilitatea apariției descendenților. Din anul 1996, unii autori au efectuat ICSI pentru cazurile rare de oligozoospermie și mai frecvent TESE - ICSI în cazul azoospermiei pentru pacienții cu Sindromul Klinefelter cu cariotip omogen 47,XXY și au demonstrat posibilitatea unei paternități biologice [69]. În ultimii 10 ani, cunoștințele despre șansele de fertilitate ale pacienților cu sindromul Klinefelter s-au schimbat considerabil, în special în ceea ce privește posibilitatea tratamentului fertilizării în vitro și ICSI [50, 70].

Odată cu apariția extragerii microchirurgicale de spermă (microTESE), șansele de recuperare a spermatozoizilor la pacienții cu sindromul Klinefelter, forma mozaică, pot ajunge până la 70% [71]. Totodată, 7-8 % din indivizii cu 47,XXY, forma clasică, pot produce spermatozoizi, în 30-50% extragerea microchirurgicală de spermă (microTESE) permite recuperarea spermei testiculare, ceea ce ajută pacienților cu Klinefelter să conceapă copiii genetici proprii datorită utilizării FIV cu ICSI; acestea pot fi explicate de: 1) mozaicismul testicular - unele spermatogonii pierd cromozomul X supranumerar devenind 46,XY asigurând o spermatogeneză normală; 2) inactivarea selectivă și variabilă a unor gene X lincate ce se expresează în testicule; 3)

polimorfismele în gena AR - un număr de repetări trinucleotidice CAG de la 9 la 37 de ori - determină valori normale ale nivelului de testosteron și, implicit, concentrații normale de gonadotropină, ce vor susține funcția normală a celulelor germinale 47,XXY inclusiv spermatogeneza [50, 67].

Întrucât prelevarea nereușită a spermei testiculare are un impact emoțional și financiar asupra pacienților cu Sindromul Klinefelter, numeroase studii au fost concentrate pentru determinarea factorilor predictivi de succes pentru recuperarea spermei la acești pacienți, cu scopul de a putea fi realizată consilierea obiectivă. Parametrii clinici, cum ar fi volumul testicular, vârsta pacientului, FSH seric, LH, inhibina B, testosteronul total, modelul părului facial, prezența ginecomastastiei, au fost studiate ca valori predictive pentru recuperarea spermei. Conform studiilor, parametrii clinici, cum ar fi FSH, inhibina B și volumul testicular nu prezintă valori predictive pentru recuperarea spermatozoizilor la pacienții cu Sindromul Klinefelter. S-a demonstrat că, la pacienții cu vârsta mai mică de 35 de ani, posibilitatea obținerii de spermatozoizi la momentul recuperării a fost, semnificativ, mai mare decât la pacienții vârstnici [72]. Vârsta pacientului este principalul factor de prognostic asociat cu recuperarea spermatozoizilor pentru TESE, procentul de TESE pozitiv este mai mare la bărbații mai tineri [69, 72, 73]. Extragerea spermatozoizilor la pacienții cu Sindromul Klinefelter trebuie efectuată înainte de vârsta critică de 32 de ani [72]. Cu vârsta, șansa de recuperare a spermatozoizilor la persoanele cu Sindromul Klinefelter scade, indicând importanța unui diagnostic precoce a acestora, care ar permite o crioconservare preventivă a spermatozoizilor ejaculați sau obținuți prin micro TESE să mențină fertilitatea [63]. Astfel, la începutul pubertății ar putea exista un interval de timp în care spermatozoizii ar putea fi detectați în ejaculat sau dacă nu, cel puțin, în țesutul testicular. Astfel, este important să se țină seama de aceste cunoștințe pentru o consiliere cuprinzătoare începând de la vârsta de 15 ani, pacienții cu Klinefelter ar trebui abordați pentru efectuarea unui TESE urmată de crioconservarea spermatozoizilor extrași. Această procedură specifică timpuriu ar putea conduce la o mai bună acceptare a diagnosticului lor și astfel ar oferi posibilitatea de a fi curabilă infertilitatea [70].

### **Tulburarea testiculară de dezvoltare sexuală (DSD)- 46,XX**

Această afecțiune rară apare la aproximativ 1/20.000 cunoscută anterior ca sindromul masculin XX sau sindromul de la Chapelle după primul său raport în anul 1964 [74]. Aproximativ 90% dintre bărbații XX au gena SRY (Sex determining region Y) localizată pe cromozomul Y-Yp11.32, translocată pe cromozomul X sau pe unul din cromozomii autosomi. Translocarea genei SRY de pe cromozomul Y pe cromozomul X sau pe cromozomii autozomali se datorează printr-un crosing-over inegal între cromozomii X și Y în timpul recombinării materialului genetic din

profaza1 a meiozei [75, 76]. Astfel, se explică cele două categorii ale acestui sindrom, SRY pozitivi în 80% din pacienți și restul 20% în SRY negativi [76]. Gena SRY codifică o proteină - testis determining factor, care inițiază diferențierea testiculului, prin activarea unor gene specifice masculinizării ce determină proliferarea și diferențierea celulelor progonadelor bipotente. Această proteină activează gena SOX-9, care induce diferențierea celulelor sertoli, necesare pentru dezvoltarea masculină și/sau reprimă calea feminină prin reglarea transcripției genelor în aval. Atât genele SRY cât și SOX-9 inhibă calea de semnalizare RSPO-1 (R-spondin-1) -Wnt-4-β-catenină-FOXL2 esențială pentru dezvoltarea ovariană [77]. Astfel, în embrionii XY, SRY induce gonadele primordiale să se dezvolte ca testicul, după care fenotipul masculin rezultă din influența hormonilor secretați de testicule în curs de dezvoltare. În contrast, la embrionii 46 XX, în lipsa genei SRY, se determină diferențierea unui ovar de la gonadele bipotente și, în consecință, dezvoltarea caracterelor sexuale feminine [76, 78]. În cazul când celula 46,XY pierde gena SRY, determinismul sexual va conduce spre feminizare cu dezvoltarea disgeneziei gonadice (femeile XY sau Sindromul Swyer), chiar dacă constituția cromozomică este de tipul XY. Iar când celula 46,XX, câștigă gena SRY pe un alt cromozom decât cromozomul Y, determină masculinizare, chiar dacă constituția cromozomică este de tipul XX, ducând la apariția anomaliei de bărbați XX [76]. Fenotipul masculin poate fi explicat de translocția regiunii masculinizante SRY (Yp11.32) pe cromozomul X sau pe unul din alți cromozomi, dar, datorită lipsei Yq și genelor AZF implicate în spermatogeneză – bărbații 46,XX sunt infertili prezentând azoospermie. În acest caz, nu se recomandă extragerea spermei testiculare, spermatogeneza reziduală nu poate fi prezentă în testicule. Au fost găsite în alte studii de specialitate după evaluarea histologică a țesutului testicular al bărbaților XX prezența Sindromului celulelor Sertoli și hiperplazia celulelor Leydig [79]. Diagnosticarea timpurie a acestui sindrom este dificilă datorită dezvoltării relativ normale a organelor sexuale, după pubertate se observă hipogonadismul, azoospermia și infertilitatea [76].

#### **Disgenezia gonadică mixtă: 45,X/46,XY**

Pierderea unui cromozom Y în timpul mitozei- dezvoltării embrionare timpurii produce forma mozaică a cariotipului 45,X/46,XY. Mozaicismul este definit ca prezența la același individ a două sau mai multe linii celulare derivate dintr-o singură linie a celulelor stem, dar cu o constituție cromozomială diferită. Mozaicismul 45,X/46,XY este o aneuploidie cromozomială rar întâlnită la 1,7/10 000 de nou-născuți [80]. Semnificația mozaicului 45,X/46,XY în sursele bibliografice este controversată și prezintă o mare provocare clinică, deoarece poate să afecteze creșterea, echilibrul hormonal, dezvoltarea gonadală, dar și, în unele cazuri, poate prezenta fenotip normal [81]. Astfel, cariotipul 45,X /46,XY se poate identifica la femei cu disgenezie gonadală, la bărbați cu disgenezie gonadală mixtă, în cazurile cu pseudohermafroditism masculin și la bărbați

aparent normali. Subiecții cu mozaicismul 45,X/46,XY care prezintă o formă de fenotip masculin normal alcătuiește un subgrup rar al acestui cariotip. Acești subiecți prezintă, de obicei, infertilitate și sunt diagnosticați pe baza rezultatelor analizei cariotipului în timpul evaluării azoospermiei sau a oligospermiei severe [80]. Fenotipul bărbaților cu infertilitate ce prezintă forma mozaică a cariotipului 45,X/46,XY tinde să varieze, dar sunt adesea prezente organele genitale ambigue sau statura joasă. Unele studii anterioare au sugerat faptul că variațiile fenotipice la persoanele cu cariotipul 45,X/46,XY pot corela cu gradul de mozaicism din sânge și testicule [81, 82]. Acest cariotip este, de obicei, observat în cazurile care conțin deleții în regiunea AZF, unde, din cauza instabilității cromozomilor, cromozomul Y se pierde. Cercetătorii au emis ipoteza că mozaicismul citogenetic sau mutațiile genelor determinante ale testiculelor din aval SRY, cum ar fi supresorul tumorii Wilms, DAX1 și testatina (20p11.2) pot juca un rol în eșecul gonadal la acești bărbați. În unele cazuri, bărbații cu mozaicul X/XY pot beneficia de TRA, diagnosticul prenatal joacă un rol important în prevenirea transmiterii potențiale a anomaliilor genetice [83].

**Sindromul XYY** este o aneuploidie a cromozomilor sexuali, ce se caracterizează prin prezența unui cromozom Y suplimentar la bărbat, formând un cariotip 47,XYY. Această anomalie cromozomială se întâlnește la unul din 1.000 de nașteri vii de sex masculin în populația generală, frecvență fiind mai înaltă în rândul populațiilor infertile [84]. Cromozomul Y suplimentar la bărbații ce prezintă forma omogenă a cariotipului 47,XYY poate fi generat prin non disjuncția paternă în timpul meiozei II după o meioză I normală. Forma mozaică a sindromului 46,XY/47,XYY este generat după o eroare mitotică post-zigotică în timpul dezvoltării embrionare timpurii [85, 86].

Majoritatea bărbaților cu cariotip 47,XYY au fenotip normal fără manifestări clinice specifice. Din cauza fenotipului heterogen și a lipsei potențiale a simptomelor, diagnosticul poate fi dificil, mai ales dacă fertilitatea nu este compromisă. Datorită acestui fapt, diagnosticul unui cariotip XYY este întârziat și doar 15% dintre pacienți sunt diagnosticați cu sindromul XYY. Câteva studii au raportat că fenotipul copilului cu sindromul XYY include statura înaltă, probleme de comportament și psihiatrice, cum ar fi tulburare de hiperactivitate cu deficit de atenție și de învățare, întârziere a vorbirii și a dezvoltării limbajului [86–88].

Conform surselor bibliografice, au fost raportate mai multe studii clinice privind starea fertilității la bărbații 47,XYY, în care au fost prezentate atât asocieri cu infertilitate primară, cât și secundară. Deși au fost descrise numeroase cazuri asociate cu infertilitate, cei mai mulți bărbați 47,XYY, după cum este indicat, sunt fertili. Spermatogeneza la bărbații 47,XYY în majoritatea cazurilor este normală, dar, de asemenea, sunt raportate cazuri un număr variabil de spermatozoizi, cum ar fi oligoasthenoteratozoospermie severă sau chiar azoospermie [86, 89].

**Tabelul 2. Prezentarea aberațiilor numerice ale cromozomilor sexuali și impactul lor asupra spermatogenezei [57]**

Kariotip	Anomalie	Fenotip	Manifestări gonadale	Manifestări extra-gonadale	Spermatogeneza
47,XXY- 48,XXXY extra X și Mozaic	Sindromul Klinefelter	Masculin	hipogonadism, defect în spermatogeneză	ginecomastie, statura înaltă	celule germinale absente/ blocarea spermatogenezei/ în cazul când există spermatozoizi sunt câțiva
47,XYY	Sindromul XYY	Masculin	posibil afectarea spermatogenezei	Fără	Spermatogeneză variabilă de la normală până la azoospermie
46, XX+SR Y (SRY transl.)	XX-la bărbați	Masculin	hypospadias, cryptorchidism	ginecomastie, statură feminină	celule germinale absente, prezența celulelor Sertoli
45,X/46,XY Mozaic	Disgenezie gonadică mixtă	Masculin excepție în unele cazuri	Organe Genitale intersexuale	multiple afecțiuni extra gonadale raportate	celule germinale absente, prezența celulelor Sertoli

### **Translocații autozomale reciproce echilibrate**

Numeroase variații echilibrate ale cromozomilor autozomi sunt identificate ca cauze la pacienții cu infertilitate masculină. Formele echilibrate frecvent nu se exprimă prin modificări fenotipice detectabile, în afară de o posibilă manifestare a influenței variabile asupra numărului de spermatozoizi, care poate varia de la un număr normal la un număr scăzut (oligozoospermie), sau chiar demonstrează o absență totală de spermă în ejaculat (azoospermie) [90]. Azoospermia la acești bărbați se datorează prin implicarea a mii de gene autosomale în controlul direct sau indirect a formării testiculelor, funcționării lor și spermatogenezei. Translocațiile reciproce sunt cele mai frecvente anomalii cromozomiale echilibrate, fiind relatate la 0,9 din 1000 nou-născuți și în aproximativ 1% din bărbații infertili. Frecvența translocațiilor reciproce este de nouă ori mai mare la bărbații infertili decât la bărbații sănătoși [91]. Asocierea translocărilor autozomale reciproce cu infertilitatea masculină a fost raportată pentru prima dată de Lyon și Meredith, în observarea de comportament anormal al autozomilor rearanjați în meioză în timpul spermatogenezei la șoareci. Conform unui studiu, o prevalență ridicată a tuturor tipurilor de anomalii cromozomiale a fost înregistrată la bărbații parteneri ai cuplurilor infertile supuse ICSI de 4,29%, iar translocările reciproce echilibrate sunt cele mai frecvente anomalii cromozomiale observate de 0,98%. De asemenea, frecvența translocațiilor reciproce echilibrate sunt mai frecvente la bărbații infertili azoospermici decât la oligozoospermici. Au fost raportate translocații autosomale reciproce la subiecții cu azoospermie în 0,9% și cu oligozoospermie severă în 0,6% comparativ cu incidența a fenotipului normală la nou-născuți de 0,1% [92]. Translocațiile cromozomiale echilibrate implică rupturi în doi cromozomi și rearanjarea anormală a fragmentelor cromozomiale, care conduc la



transpunerea materialului genetic de la un cromozom la altul fără pierderea materialului genetic, ceea ce explică că în majoritatea cazurilor purtătorii cu translocații reciproce prezenta un fenotip normal. Azoospermia în aceste cazuri poate fi explicată prin: 1) unul dintre punctele de ruptură întrerupe o genă, ce controlează spermatogeneza și conduce la blocarea spermatogenezei sau spermatogeneză incompletă; 2) cromozomii cu translocații conjugă anormal în Profaza I a meiozei ce face dificilă disjuncția cromozomilor și gametogeneza este blocată [35, 93]. Cromozomii acrocentrici din grupul D [13, 14, 15] și grupa G [21, 22] sunt cei mai frecvenți implicați în rearanjări, care sunt asociate cu împerecherea meiotică eșuată rezultând infertilitate masculină. Anomaliile cromozomiale, în special, rearanjările cromozomiale echilibrate, sunt asociate cu un risc crescut de avort sau descendenți cu malformații congenitale. Conform unui studiu, incidența raportată a translocațiilor cromozomiale echilibrate la cuplurile cu istoric de avorturi spontane variază între 3 și 6%. O prevalență ridicată a tuturor tipurilor de anomalii cromozomiale a fost înregistrată la bărbații parteneri ai cuplurilor infertile supuse ICSI de 4,29%, iar translocările reciproce echilibrate sunt cele mai frecvente anomalii cromozomiale observate de 0,98% [1]. Riscul unui cariotip echilibrat depinde de comportamentul de segregare a cromozomilor derivați în timpul meiozei și de mărimea și natura segmentelor cromozomiale translocate sau inversate. În timpul spermatogenezei la purtătorii translocațiilor echilibrate, segregarea gameților pot conduce la duplicarea sau deleția regiunilor cromozomiale implicate în translocare, rezultând anomalii cromozomiale neechilibrate. Proporția gameților cu anomalii cromozomiale neechilibrate produsă de către purtătorii de translocații echilibrate poate varia de la 19% la mai mult de 80% și depinde de tipul de translocare [94]. Trebuie menționat că, numărul gameților neechilibrați vor fi, semnificativ, mai mari decât riscul empiric de a avea un născut viu cu anomalii cromozomiale neechilibrată datorită faptului că cei mai mulți gameți neechilibrați, vor fi spontan avortați în timpul dezvoltării embrionare timpurii (în funcție de tipul cromozomului și dimensiunea segmentului implicat) [95].

### **Translocții reciproce X-autosomale și Y-autosomale**

Sunt frecvente asociate cu infertilitatea masculină și translocațiile care implică cromozomii sexuali (translocări X-autosomale și Y-autosomale). Translocațiile reciproce X-autosomale cauzează infertilitate masculină, indiferent de poziția punctului de întrerupere în cromozomul X. La purtătorii masculini de translocații reciproce echilibrate X-autosomale, azoospermia este cea mai frecventă patologie detectată, deși unele cazuri a fost raportată și oligozoospermia. În translocațiile reciproce echilibrate X-autosomale, un segment al cromozomului X care conține gene X este translocat pe un cromozom autozomal și segmentul cu gene-X devine legat de elementele care controlează expresia genelor autozomale. Se presupune că segmentul translocat

X, conținând gene  $-X$ , este activ transcripțional, deoarece elementele de inactivare X au fost eliminate din controlul segmentului translocat. Inactivarea anormală a segmentului translocat X interferează cu controlul genetic al progresiei celulelor germinative, rezultând în stop meiotic la stadiul primar de spermatocit [96].

Translocația reciprocă Y autozomală este foarte rară. Multe cazuri sunt datorate mutațiilor de novo. Fenotipul bărbaților cu translocații Y-autozomale este variabil în dependență de localizarea punctului de ruptură și de mărimea segmentului translocat. Translocările reciproce care implică segmentele cromozomilor Y pot duce la spermatogeneză aberantă datorită împerecherii anormale a cromozomilor în timpul meiozei, testicule anormale în cazul afectării genei SRY sau azoospermie în cazul transcrierii defectuoase a genelor din regiunea AZF [97].

### **Translocații robertsoniene**

Un număr crescut de purtători de translocații robertsoniene au fost raportate în rândul bărbaților cu oligozoospermie severă de 1,6% și azoospermie de 0,09% ce se adresează în clinici de infertilitate comparativ cu incidența de 0,08% la nou-născuții fenotipic normali [96]. Translocațiile robertsoniene implică doar cromozomii acrocentrici, în special cromozomii 13, 14, 15, 21 și 22. În acest caz, translocarea apare ca rezultat al fuziunii centrice a doi cromozomi acrocentrici, în care se alătură cele 2 brațe lungi (q) și cele 2 brațe scurte (p) ale fiecărui cromozom se pierd, formând un nou cromozom. În 70% din translocațiile robertsoniene apar între cromozomii 13 și 14, și în 10% între cromozomii 14 și 21. La fel, cea mai frecventă translocație robertsoniană observată la populația infertilă masculină este t(13q;14q). Cele mai multe cazuri (13q14q) sunt familiale și mulți dintre purtătorii infertili au rude fertile care poartă aceeași rearanjare cromozomială [98].

Conform unui studiu realizat privind relația anomaliilor cromozomiale și riscurile de recurență la descendenții bărbaților azoosperimici, s-a identificat că translocațiile reciproce și robertsoniane au reprezentat 86% din anomaliile cromozomiale cu un risc crescut de avort și 89% din anomalii cu un risc crescut de descendenți cu anomalii congenitale [52].

### **Inversii cromozomiale**

Ca și în translocațiile cromozomiale, inversiile pot cauza infertilitatea la bărbați. Consecințele acestui fapt nu sunt de loc de neglijat, pentru ca există riscuri asociate: pierderi de sarcină, copii cu anomalii genetice, descendenți cu probleme de infertilitate. Există două tipuri de inversii: pericentrică și paracentrică. Inversiile pericentrice implică brațele scurte și lungi (brațul p și, respectiv, brațul q) ale cromozomului și includ centromerul. Inversiile paracentrice apar într-un braț al cromozomului și nu includ centromerul [99].

Inversiile cromozomiale cu implicarea autozomilor 1, 3, 4, 6, 9, 10 și 21 sunt mai frecvente la bărbații infertili [14]. Una dintre cele mai frecvente rearanjări structurale echilibrate ale cromozomilor este inversarea pericentrică a cromozomului 9; inv (9) (p11q12) și (p11q13), care este considerată varianta cariotipului normal, fiind identificată la populația normală. Deși pare să nu se coreleze cu fenotipurile anormale, au existat multe rapoarte controversate, care indică faptul că poate duce la condiții clinice anormale, cum ar fi infertilitatea și avorturile recurente. Se constată că incidența a acestei inversii este de aproximativ 1% - 3% în populația generală. La bărbații infertili inversiile pe cromozomul 9 asociate cu azoospermia sunt de opt ori mai frecvent întâlnite [14, 100].

Inversările paracentrice pot produce gameți care nu au nici un centromer (acentric), fie doi centromeri (dicentric) și, prin urmare, nu sunt viabili. Cu toate acestea, inversările pericentrice pot duce la copii născuți vii, cu defecte la naștere, din cauza prezenței trisomiei parțiale sau a monosomiei parțiale. Riscul general pentru un purtător de inversie pericentrică de a avea un copil cu o rearanjare cromozomială dezechilibrată este estimat la 5% - 10%. Ca și în cazul translocațiilor cromozomiale riscul, frecvența relativă a gameților normali sau neechilibrați, depinde de cromozomul implicat și de mărimea segmentului inversat [101].

### **Polimorfisme cromozomiale**

Polimorfismele cromozomiale se referă la variațiile heterocromatinei cromozomiale. Mult timp, heterocromatina constitutivă a fost considerată ca un rearanjament cromozomial minor, care este formată din secvențe înalt repetitive ale ADN-ului, care nu are potențial de codificare și nu corelează cu fenotipuri anormale. Cu toate acestea, un număr tot mai mare de studii au raportat efectele potențiale ale polimorfismelor cromozomiale asupra reproducerii. În ultimii ani, un număr tot mai mare de studii au raportat o incidență crescută a polimorfismelor cromozomiale la cuplurile infertile, la pacienții cu avorturi spontane și chiar la pacienții cu tulburări psihiatrice. Cu toate acestea, modul în care polimorfismele cromozomiale afectează fertilitatea rămân neclare [102].

Cromozomul Y conține o regiune cu secvențe de ADN înalt repetitive, cu un grad înalt de polimorfisme structurale. Cromozomul Y este mai polimorf la asiatici (3,37%) și hispanici (1,82%), comparativ cu rasa albă și neagră. Pentru infertilitatea masculină, cele mai frecvente polimorfisme caracteristice sunt: inv(9), inversia familială a cromozomului Y, Yq+, creșterea/reducerea pericentromerică a heterocromatinei, sateliți de dimensiuni mari/duplicații pe cromozomii acrocentrici [20]. Inversiunea pericentrică a cromozomului Y (inv Y) este familială. Incidența invY este în medie de 1,15 la 1000 de bărbați. Incidența inv Y la diferite populații a fost studiată la nivel mondial și s-a determinat că 30,5% din inv Y este prezentă în comunitatea musulmană imigrantă, originară din Surat și stabilită în Africa de Sud. Alte studii, au demonstrat

asocierea dintre inversiunea pericentrică în diferiți cromozomi umani și anomaliile congenitale, avorturile spontane repetate, deficiențele mintale și infertilitatea [99].

### **Microdelețiile cromozomului Y**

Există un interes special pentru genele brațului lung al cromozomului Y, deoarece acestea joacă un rol esențial în spermatogeneză și dezvoltarea testiculelor. Cromozomul sexual masculin este un cromozom mic acrocentric ce conține circa 557 gene, fiind deosebit prin dimensiunea, structura genomică, conținutul și traiectoria evolutivă. Marea majoritate (95%) a genelor cromozomului Y conțin material pentru diferențierea specifică a sexului, cum ar fi locusul SRY [103]. Este haploid și împiedică recombinația cu cromozomul X pe cea mai mare parte a lungimii sale (cu excepția celor două regiuni pseudoautosomale, PAR1 și PAR2). Mai mult, conține dublări segmentare dispuse în repetări directe sau inversate, și palindroame. Existența acestor secvențe duplicate permite un mecanism numit Recombinare Omologă Non-Alelică (NAHR), care ar putea duce la recurente deleții/duplicări care afectează dozajul genei pe cromozomul Y [104]. Asocierea între delețiile brațului lung a cromozomului Y și azoospermia a fost inițial sugerată de Tiepolo și Zuffardi în anul 1976. Cele mai multe, dintre aceste gene sunt situate în regiunea Yq11.21-23 cunoscută ca regiunea Azoospermia factor (AZF). În prezent, au fost cartografiate trei domenii genetice în regiunea AZF (AZFa, AZFb, AZFc), în intervalul 5 și 6 pe brațul distal al cromozomului Y (Figura 2) [105].

Delețiile sub-microscopice ale cromozomului Y, nu sunt vizibile prin analiză citogenetică clasică și sunt cea mai frecventă cauză moleculară-genetică a infertilității masculine. Prevalența delețiilor cromozomului Y este estimată la aproximativ 1:2000 până la 1:3000 din bărbați [106]. Microdelețiile genelor din aceste regiuni pot duce la diferite grade de eșec spermatogen și, prin urmare, infertilitate, a căror prevalență crește odată cu severitatea tulburărilor de spermatogeneză [107]. Microdelețiile în cadrul regiunii AZF sunt depistate la aproximativ 4% dintre bărbații cu oligozoospermie; 14% dintre bărbații cu oligozoospermie severă; iar 10-18% la bărbații cu azoospermie nonobstructivă [108]. Regiunea AZF este absentă la 1 din 8 bărbați azoospermici cu constituția cariotipului normal [109].

Frecvența microdelețiilor cromozomului Y sunt, frecvent, diagnosticate într-un procent variabil în infertilitatea masculină, în diferite populații geografice de la 1% până la 55%. Dar cel mai frecvent sunt raportate în mai puțin de 15%. La populația bărbaților din Egipt frecvența AZF deleții a fost raportată în 8,7% din 20 cu azoospermie [110]. Conform unui studiu realizat în China, la 945 bărbați cu azoospermie, frecvența microdelețiilor în regiunea AZF este identificată în 11,5% [111]. Date similare de 11,7% sunt raportate de către Japonia pe un eșantion de 60 bărbați

azoospermici și 11,8%, de către Tunisia pe un eșantion de 76 de bărbați cu azoospermie [111]. Conform unui studiu realizat în SUA, pe un grup de 385 bărbați cu azoospermie, incidența AZF deleții fiind 10,4% [109]. În jur de 8,3% au fost raportate microdeleții în regiunea AZF de către Jordania, din 34 bărbați azoospermici și Norvegia 8,1% din 37 bărbați cu azoospermie [111]. În Africa de Sud frecvența microdelețiilor cromozomului Y la 50 de bărbați cu azoospermie și oligozoospermie severă a fost de 22% [112]. De asemenea, frecvențe joase sunt raportate de către Algeria de 2%, Slovacia de 4,6%, și Turcia 1,3% la bărbații azoospermici [111]. Eterogenitatea rezultatelor delețiilor în regiunea AZF în diferite regiuni geografice se poate datora metodei de diagnosticare - diferitelor numere de primeri STS folosiți în detectarea mutației, unei variații a criteriilor selective utilizate pentru pacienții infertili recrutați sau faptului că studiile au fost efectuate pe diferite populații etnice [112].

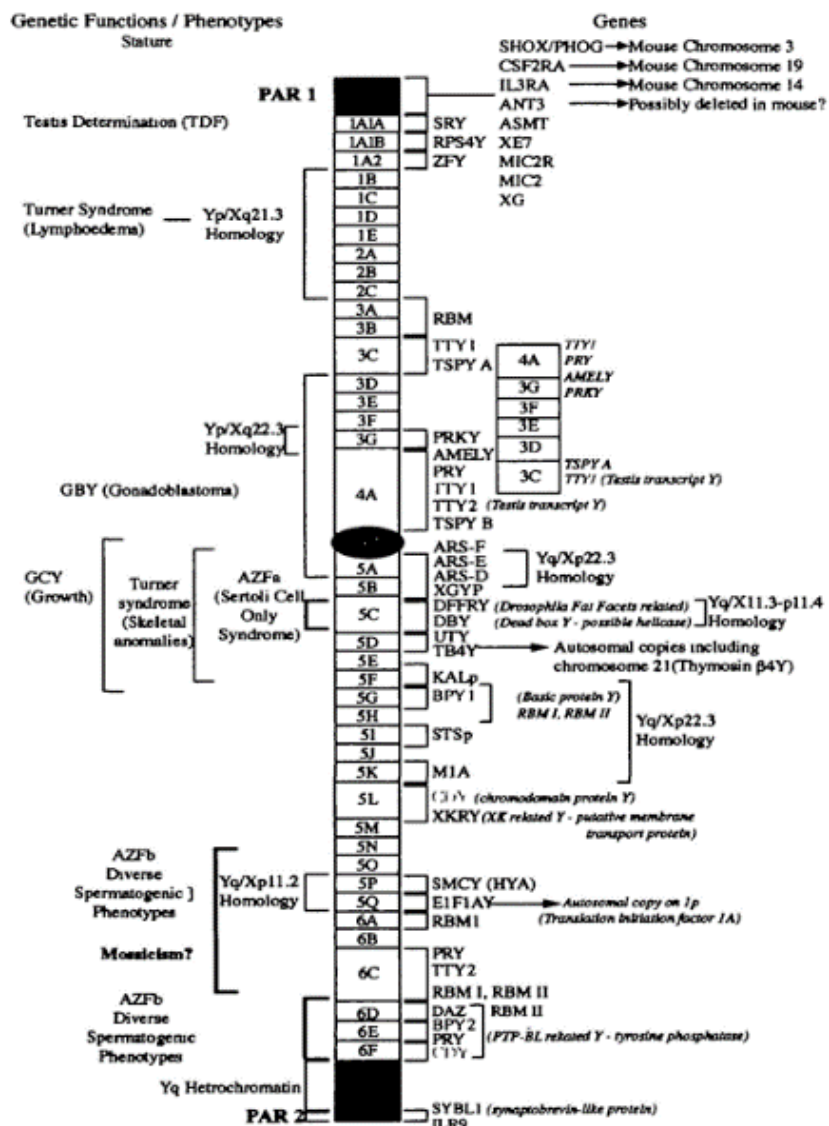


Figura 2. Cromozomul Y și genele fertilității. Figura preparată de N. Affara, Universitatea Cambridge, și prezentată la Conferința Y Gene, Edinburgh, Septembrie 1998 [105]

Marea majoritate a microdelecțiilor apar de novo având originea lor cel mai probabil în timpul meiozei spermatogenezei și au fost atribuite recombinării omologe intra cromozomiale – NAHR, în ampliconi instabili grupați în cadrul acestei regiuni. Microdelecțiile elimină una sau mai multe dintre genele implicate în spermatogeneză și, ca rezultat, cauzează defecte variate ale spermatogenezei. Genele candidate în regiunile AZF au fost studiate pe larg, fiind recunoscute că joacă roluri critice în reglarea ciclului meiozei ale celulelor germinale [104].

Cele mai frecvente microdelecții ale cromozomului Y se întâlnesc în regiunea AZFc cu o frecvență de aproximativ 60%. Frecvența mai înaltă a delețiilor în regiunea AZFc, se datorează, în mare parte, mărimii mai mari comparativ cu regiunea AZFa și AZFb [93].

Familia genei DAZ (Deleted in Azoospermia) este raportată ca fiind cea mai frecventă genă ce prezintă deleții în regiunea AZFc cu o frecvență de 13% la bărbații azoospermici, în concordanță bună cu rata microdelecțiilor de la 5% la 20% [112] [106]. Gena DAZ aparține unei familii de gene, care codifică proteinele ce se leagă la ARN (Acid Ribonucleic), fiind exprimate exclusiv în celulele germinale și controlează spermatogeneza. Delețiile locusului AZFc cauzează defecte ale spermatogenezei, variind în severitate, de la azoospermie datorată celulelor Sertoli până la oligozoospermie [106].

**Tabelul 3. Prezentarea tulburărilor spermatogenezei datorate mutațiilor genelor cromozomului Y**  
[57]

Locus	Gena	Anomalie	Fenotip	Manifestări Gonadale	Manifestări extra-gonadale	Spermatogeneza
Yp11.3	SRY	XX-masculin XY-feminin	masculin feminin	Disginezie gonadică	inversiune de sex	celule germinale absente
Yq11.21 AZF 'a'	necunoscută USP9Y DBY	azoospermia factorul 'a'	masculin	tulburări de spermatogeneză	Lipsă	celule germinale absente doar celule Sertoli
Yq11.22–23 AZF 'b'	RBM1 TSPY EIF1AY	azoospermia factorul 'b'	masculin	tulburări de spermatogeneză	Lipsă	blocarea spermatogenezei la nivel de spermatoцит sau spermatidă
Yq11.22–23 AZF 'c'	DAZ DAZ2 TTY1+2	azoospermia factorul 'c'	masculin	tulburări de spermatogeneză	lipsă	spermatogeneză blocată sau blocarea spermatidelor în dezvoltare

Tulburările severe ale spermatogenezei implică microdelecții la începutul brațului distal al cromozomului Yq11.21 din regiunea AZFa. Delecții de novo a genelor din regiunea AZFa Yq11.2; determină pierderea completă a celulelor germinale, caracteristic doar pentru Sertoli Cell-Only Syndrome (SCOS), o afecțiune caracterizată prin prezența celulelor Sertoli în testicule și lipsa spermatozoizilor (Figura 2). Locusul AZFa este situat la partea proximală a brațului lung al cromozomului Y și cuprinde aproximativ 1,1 Mb [113]. Această regiune include 4 gene inclusiv USP9Y (Ubiquitinspecific protease 9, Y chromosome), DBY (dead box on the Y), UTY

(ubiquitous TPR motif on the Y) și TB4Y (thymosin B4-isoform). În cazul deleției ambelor gene USP9Y și DBY cauzează sindromul celulelor Sertoli, astfel, această regiune fiind esențială pentru fertilitate [114].

Gena USP9Y se extinde pe o regiune de 170 kb în molecula de ADN, constă din, cel puțin, 46 de exoni, prezentă într-o singură copie, este exprimată într-o mare varietate de țesuturi și realizează funcții asemănător ubiquitin hidrolazei [114]. Deleții mici, în gena USP9Y, par a fi asociate cu spermatogeneză severă cauzând azoospermie, oligozoospermie, sau oligoastenozoospermie, pacienții cu deleții complete a genei DBY prezintă Sindromul celulelor Sertoli, o afecțiune caracterizată prin prezența celulelor Sertoli în testicule și lipsa spermatozoizilor [115].

Bărbații purtători de microdeleții ale cromozomului Y nu prezintă simptome clinice, în afară de afectarea spermatogenezei, aparent sunt perfect sănătoși și duc o viață normală, însă cu prognostic nefavorabil pentru reproducere .

Principala genă din regiunea AZFb fiind RBMY1 care codifică testis-specific RNA binding protein/splicing factor, fiind exprimată în nucleele spermatogoniilor, spermatozitelor. Familia genelor PRY, de asemenea, se găsesc în regiunea AZFb, fiind implicate în apoptoză, un process esențial pentru înlăturarea spermatozoizilor anormali [116].

Infertilitatea este o problemă medicală complexă datorită faptului că unul din patru cupluri din întreaga lume nu reușesc să conceapă un copil, factorul masculin fiind implicat în aproximativ 50% din cazuri. Infertilitate masculină prezintă un ansamblu de condiții heterogene, cel mai frecvent, în proporție de 75%, este cauzată de tulburările de spermatogeneză, și manifestată clinic prin astenozoospermie, teratozoospermie, oligospermie și azoospermie. Cea mai severă formă de infertilitate masculină este azoospermia.

Bărbații cu azoospermie au fost clasificați în categoria cu infertilitate ireversibilă și utilizarea unui donator de spermatozoizi a fost considerată una dintre cele mai bune opțiuni de concepere. În prezent, datorită tehnicilor avansate de reproducere asistată, bărbații cu azoospermia chiar și cu forma non - obstructivă pot concepe copii biologici proprii. Bărbații cu azoospermie prezintă cel mai mare risc a fi purtători a unor anomalii genetice. Identificarea cauzei genetice care stă la baza infertilității masculine prezintă relevanță de diagnostic, clinică, tratament și pronostic înaintea aplicării TRA. Dintre multiplele cauze genetice implicate în azoospermie, unele din cele mai frecvente sunt anomaliile cromozomiale, microdelețiile cromozomului Y și mutațiile genei CFTR.

## 2. MATERIALE ȘI METODE DE INVESTIGAȚII

În capitolul II, vom pune accentul pe evidențierea valorii și contribuției metodologiei cercetării, și anume: caracteristica generală a studiului și tipul de studiu, design-ul cercetării, materialul studiat. De asemenea, vor fi prezentate date generale despre grupul de cercetare ale rezultatelor  $n=5767$  spermogramelor și grupul de cercetare ale  $n=96$  bărbați cu azoospermie. Vor fi analizate metodele generale utilizate în studiu, precum și metodele genetice: molecular genetică și citogenetică. În acest compartiment al tezei, sunt reflectate metodele de evaluare statistică a rezultatelor obținute.

### 2.1. Caracteristica generală a studiului: etapele și design-ul studiului, lotul de cercetare

Pentru valorificarea fiecărui obiectiv al cercetării au fost realizate 2 tipuri de studiu: studiul descriptiv integral și studiul transversal.

1. **Studiul descriptiv** a cuprins cercetarea rezultatelor spermogramei  $n=5767$ , efectuate pe parcursul anilor 2012–2020. Rezultatele spermogramei au fost extrase din registrul de evidență a analizelor de spermă, din cadrul Instituției Centrului Medical Repromed pentru anii 2012–2020. Regresia liniară a fost utilizată pentru a examina tendințele în timp la parametrii spermei: concentrația spermatozoizilor; motilitatea; morfologie și vitalitate. A fost efectuat un test de analiză a varianței (ANOVA) pentru a vedea dacă există diferențe generale în media parametrilor spermatozoizilor, pentru fiecare an din perioada 2012-2020 și pentru mediane (ANOVA conform Kruskal Wallis). Studiul efectuat a permis evaluarea tendinței de modificare a calității materialului seminal.

2. **Studiul transversal** a fost realizat în perioada anilor 2018 – 2020, pe un eșantion de 96 de bărbați infertili cu azoospermie, cu vârstă mai mare de 18 ani, din cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului, Centrul de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală și Centrul de Sănătate „Repromed”.

Calcularea lotului reprezentativ s-a efectuat prin aplicarea formulei lui Cochran:

$$n=d[\tilde{\pi}(1-\tilde{\pi})]*(z\alpha/w)^2$$

$d$  - design-efect = 1

$\tilde{\pi} = 0,06$  (conform datelor laboratorului Centrului de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală ponderea azoospermiei la bărbații cu infertilitate în perioada anului 2013-2017 este în medie 6,0%)

$z\alpha = 1,96$  pentru intervalul de încredere de 95,0%

$w$  – lucrarea a fost efectuată în baza evaluării frecvențelor și aranjarea lor după valorile relative, avem nevoie de intervalul de încredere de 95,0%,  $w=0,05$

Introducând datele în formulă, am obținut:



$n = 1 * [0,06 * 0,94] * (1,96 / 0,05)^2 = 87$  și rata de 10,0% de non-răspuns 96 bărbați infertili cu azoospermie cu respectarea criteriilor de includere și de excludere. După evaluarea examenelor genetice, a fost divizat lotul general în două subloturi: Sublotul 1 au inclus bărbații infertili cu azoospermie cu variații genetice și Sublotul 2 - bărbații cu azoospermie fără variații genetice prin testele citogenetice și molecular genetice.

Cercetarea științifică a fost realizată consecutiv în cinci etape:

**Etapa I - Evaluarea clinică și paraclinică a bărbaților cu infertilitate**, ce se adresează pentru consultul medico-genetic de la IMSP Institutul Mamei și Copilului, Centrul de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală și Centrul de Sănătate „Repromed”.

1. Anamneza masculină (date generale, anamneza familială, a fertilității, pubertală, urogenitală, sexuală, maladii iatrogene, etc.).
2. Evaluarea materialului seminal (confirmarea azoospermiei după minim 2 spermograme, centrifugate, conform cerințelor OMS 2010).
3. Examenul profilului hormonal: (FSH - Hormonul Foliculostimulant, valori de referință (2,0-10,0), unități de măsură (mIU/ml); LH - Hormonul Luteinizant, valori de referință (3,0-12,0), unități de măsură (mIU/ml); Prolactina, valori de referință (1,8-17,0), unități de măsură (ng/ml); Testosteron, valori de referință (2,0-6,9), unități de măsură (ng/ml); Testosteron liber, valori de referință (4,5-42,0), unități de măsură (pg/ml).
4. Metode instrumentale: (ecografie testiculară, transrectală, abdominală).

**Etapa II - Selectarea bărbaților infertili cu azoospermie**, după obținerea rezultatelor evaluării clinice și paraclinice, care au inclus 96 pacienți.

Criteriile de includere în cercetare a pacienților:

1. Semnarea acordului de acceptare pentru participare la cercetare.
2. Bărbați cu infertilitate cauzată de azoospermie.
3. Vârsta adultă (mai mare sau egală cu 18 ani).

Criterii de excludere din cercetare a pacienților:

1. Lipsa acordului de participare la cercetare.
2. Bărbați cu infertilitate fără azoospermie.
3. Minorii cu vârsta mai mică de 18 ani.

**Etapa III - Evaluarea examenului citogenetic și molecular-genetic al bărbaților cu azoospermie.**

Examenul citogenetic a avut ca scop analiza variațiilor cromozomilor: evaluarea sexului genetic; anomaliilor cromozomiale de număr; identificarea unor aneuploidii a cromozomilor

sexuali, cum ar fi Sindromul Klinefelter; anomalii ale cromozomilor autosomi, translocațiilor robertsoniene și translocațiilor reciproce; anomaliilor cromozomiale structurale neechilibrate (delețiilor ale cromozomului Y în regiunea de eucromatină) și echilibrate (delețiilor ale cromozomului Y în regiunea de heterocromatină); polimorfismelor cromozomiale.

Examenul molecular-genetic pentru identificarea microdelețiilor cromozomului Y a fost realizat prin aplicarea metodei multiplex PCR (Reacția de polimerizare în lanț). Prin acest test, utilizând primeri specifici, pot fi detectate delețiile celor 3 regiuni a AZF (AZFa, AZFb, AZFc). Astfel, au fost analizate microdelețiile în 12 loci, dintre care SRY s-a utilizat ca control intern și a permis diagnosticarea bărbaților XX. Secvențele țintă utilizate inițial sunt următoarele sY84 și sY86 (AZFa), sY127 și sY134 (AZFb), sY254 și sY255 (AZFc) și SRY și ZFX/ZFY (pentru control). Conform secvențelor țintă, au fost testate următoarele gene: sY84 - gena DYS 388 și sY86 - gena DYS148; sY127- gena DYS218 și sY13- gena DYS224; sY254 - gena DAZ și sY255 - gena DAZ. Secvențele țintă următoare sunt noi introduse sDBY1 și sY620 (AZFa), sY153 și sY158 (AZFc), sY117 și sY143 (AZFb). Genele testate, datorită amorsoanelor țintă noi introduse, sunt următoarele: sDBY1-gena DBY și sY620-USP9Y; sY153-gena DYS237 și sY158-gena DYS 241; sY117-gena DYS209 și sY143-gena RBM1.

Identificarea mutațiilor genei CFTR a fost realizat prin aplicarea metodei PCR – au fost analizate mutațiile - delF508 și G542X. În caz de confirmare a mutației, a fost realizată testarea celui alt partener pentru evaluarea riscului de recurență la copil.

În baza analizei rezultatelor investigațiilor citogenetice și molecular-genetice, lotul de cercetare general de (n=96) bărbați cu azoospermie a fost divizat în două subloturi, după cum urmează: sublotul 1 a inclus bărbați infertili cu azoospermie cu variații genetice cromozomiale, microdeleții Y și mutații CFTR depistate (n=35); sublotul 2 a inclus bărbați infertili cu azoospermie fără variații genetice cromozomiale, microdeleții Y și mutații CFTR depistate (n=65).

**Etapa IV - Prelucrarea statistică a datelor obținute** a fost realizată prin efectuarea unor analize de comparație între sublotul 1 – bărbați infertili cu azoospermie confirmată genetic și sublotul 2 – bărbați infertili cu azoospermie neconfirmată etiologie genetică.

**Etapa V - Formularea concluziilor și recomandărilor.** În baza rezultatelor obținute, au fost elaborate concluzii, recomandări practice, strategii adecvate în consultul bărbaților infertili cu azoospermie, care au inclus toate aspectele, privind tipul individual de anomalie, relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic pentru descendenți și diagnostic prenatal. Recomandările propuse pot fi folosite în scopul optimizării algoritmului de diagnostic genetic al azoospermiei și metodelor de reproducere asistată în infertilitatea masculină cu azoospermie cauzată de variații cromozomiale, microdeleții Y și mutații CFTR.

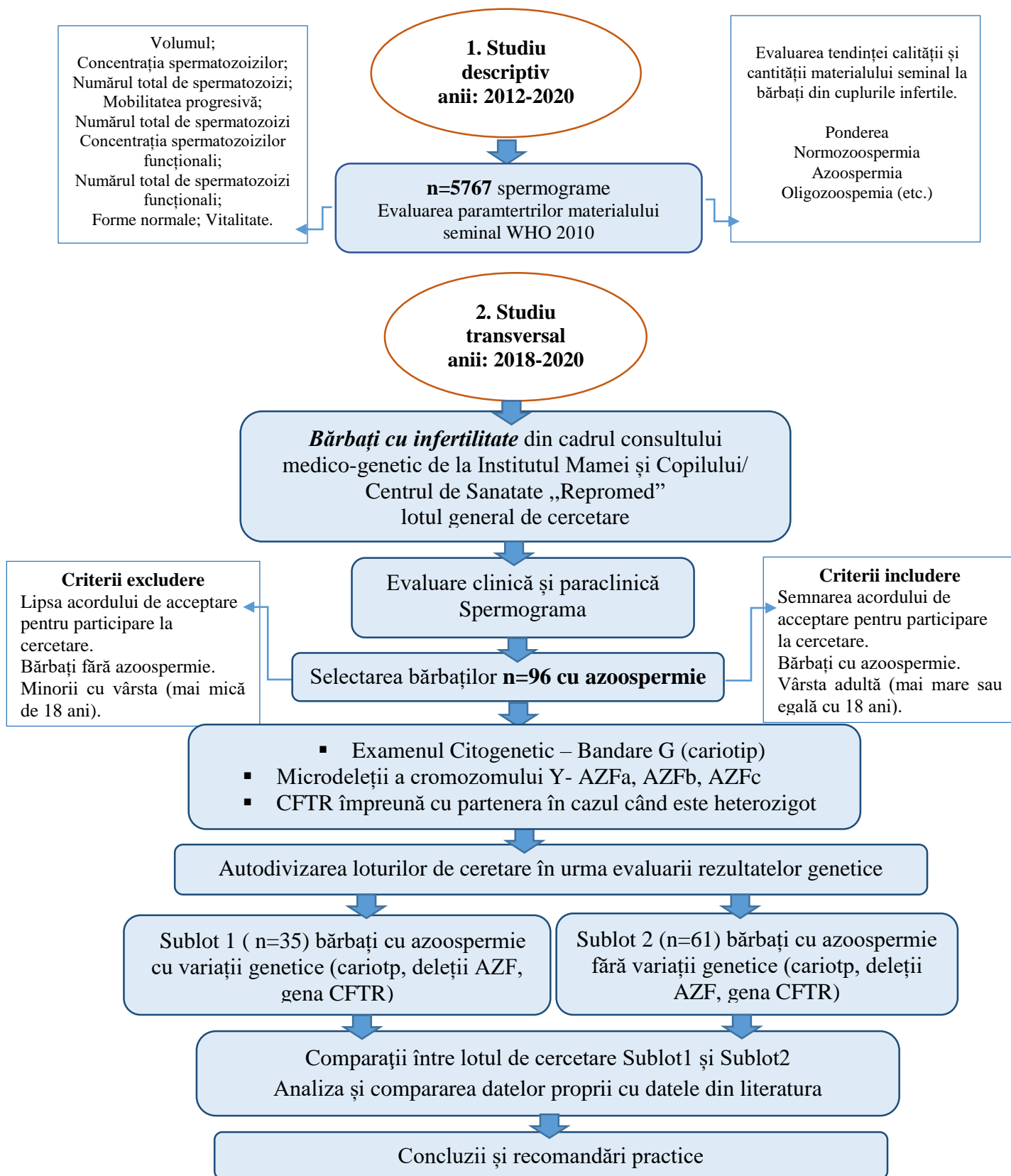


Figura 3. Designul general al studiului

Notă: CFTR- gena receptorului canalului de Clor, AZF- azoospermia factor.

**Caracteristica lotului de cercetare (n=5767 spermograme).** Au fost analizate rezultatele parametrilor spermogramei (n=5767), efectuate în cadrul unui centru de reproducere pe parcursul anilor 2012-2020 (Tabelul 2.1). Numărul spermogramelor analizate, repartizate pe ani sunt următoarele: 200 în anul 2012, 7003 în 2014, 852 în 2014, 794 în 2015, 703 în 2016, 685 în 2017, 685 în 2018, 630 în 2018, 640 în 2019 și 560 în anul 2020, fapt ce arată că numărul rezultatelor analizate este, relativ, constant. Reprezentarea lotului de cercetare a bărbaților la momentul realizării spermogramei pe grupe de vârste au fost următoarele: 447 cu vârsta 20 – 29 de ani, 3387 cu vârsta de 30 - 39 de ani, 1693 cu vârsta de 40 – 49 ani, 225 pacienți cu vârsta 50 – 59 ani și 15 pacienți cu vârsta  $\geq 60$  ani. Vârsta medie a bărbaților la momentul realizării spermogramei în timpul perioadei de studiu, pe întregul eșantion (n=5767) a fost de  $37,4 \pm 6,3$  ani, (ÎÎ 95%: 37,3– 37,6; mediana: 37).

Tabelul 4. **Reprezentarea lotului de cercetarea a bărbaților la momentul realizării spermogramei pe ani și grupe de vârste**

Anii	Grupe de vârstă											
	20-29		30-39		40-49		50-59		$\geq 60$		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2012	0	0	85	2,5	99	5,8	16	7,1	0	0	200	3,5
2013	2	0,4	347	10,2	305	18	47	20,9	2	13,3	703	12,2
2014	14	3,1	480	14,2	314	18,5	41	18,2	3	20	852	14,8
2015	22	4,9	475	14,0	262	15,5	31	13,8	4	26,7	794	13,8
2016	33	7,4	422	12,5	217	12,8	29	12,9	2	13,3	703	12,2
2017	65	14,5	426	12,6	169	10	23	10,2	2	13,3	685	11,9
2018	73	16,3	401	11,8	138	8,2	17	7,6	1	6,7	630	10,9
2019	107	23,9	396	11,7	121	7,1	16	7,1	0	0	640	11,1
2020	131	29,3	355	10,5	68	4	5	2,2	1	6,7	560	9,7
<b>Total</b>	<b>447</b>	<b>7,8</b>	<b>3387</b>	<b>58,7</b>	<b>1693</b>	<b>29,4</b>	<b>225</b>	<b>3,9</b>	<b>15</b>	<b>0,3</b>	<b>5767</b>	<b>100</b>

**Caracteristica lotului de cercetare (n=96, bărbați cu azoospermie).** Toți pacienții au fost diagnosticați cu azoospermie după, cel puțin, 2 analize de material seminal. Recoltarea spermogramei s-a efectuat conform cerințelor stabilite de OMS după o abținere recomandată de 3 – 7 zile. Vârsta medie a bărbaților cu azoospermie pe întregul eșantion (n=96) a fost de  $33,8 \pm 5,3$  ani, (ÎÎ 95%: 32,7 – 34,9; mediana: 33,0). Din numărul total cei mai mulți pacienți (n=64) în studiu au fost de vârsta de 30 – 39 ani, cu media de  $34,2 \pm 2,6$  ani, (ÎÎ 95%: 33,6 – 34,8). De vârsta de 19-29 ani au fost (n=22) cazuri media  $27,7 \pm 2,2$  ani, (ÎÎ 95%: 26,7 – 28,7) și cele mai puține (n=10) cazuri s-au înregistrat la vârsta  $\geq 40$  ani media  $44,6 \pm 4,3$  ani, (ÎÎ 95%: 41,5 – 47,7).

Media istoriei infertilității la întregul eșantion a fost de  $6,5 \pm 4,6$  ani, (ÎÎ 95%: 5,6 – 7,5). Cea mai mare medie fiind la grupul de vârstă  $\geq 40$  ani de  $14,7 \pm 4,1$  ani, (ÎÎ 95%: 11,8 – 17,6), urmată de grupul de vârstă de 30 - 39 ani cu media de  $6,5 \pm 3,6$  ani, (ÎÎ 95%: 5,6 – 7,4) și 20 – 29 ani cu

media de  $2,9 \pm 2,1$  ani, (Î 95%: 2,0 – 3,8). Analiza mediilor (ANOVA:  $F=42,8$ ;  $p=0,000$ ) ne semnalizează existența diferențelor statistice semnificative.

Media de vârstă la care s-a diagnosticat infertilitatea pe tot eșantionul este de  $27,3 \pm 3,8$  ani, (Î 95%: 26,5 – 28,0). S-au depistat diferențe statistice semnificative pentru acest indicator în dependență de vârsta pacienților la momentul includerii în studiu ( $F=8,8$ ;  $p = 0,000$ ). Astfel, în grupul de vârstă 19 – 29 ani aceasta a constituit  $24,8 \pm 3,8$  ani, (Î 95%: 23,1 – 26,5), semnificativ diferit de grupurile de vârstă 30-39 ani ( $27,7 \pm 3,3$ , Î 95%: 26,9 – 28,5) și  $\geq 40$  ani ( $29,9 \pm 4,1$  Î 95%: 27,0 – 32,8). Cei mai mulți pacienți s-au adresat la vârsta de 30-39 ani ( $n=64$ ), acest fapt fiind și unul evident explicat prin faptul că la această vârstă cuplurile mai frecvent planifică să conceapă copii (Tabelul 5).

**Tabelul 5. Repartizarea bărbaților cu azoospermie conform grupelor de vârstă și istoria infertilității**

		Nr.abs	Media $\pm$ DS	Î 95%	Mediana
Vârsta (ani)	19 – 29	22	$27,7 \pm 2,2$	26,7 – 28,7	28,0
	30 – 39	64	$34,2 \pm 2,6$	33,6 – 34,8	34,0
	$\geq 40$	10	$44,6 \pm 4,3$	41,5 – 47,7	44,5
	Total	96	$33,8 \pm 5,3$	32,7 – 34,9	33,0
Istoria infertilității	19 – 29	22	$2,9 \pm 2,1$	2,0 – 3,8	2,0
	30 – 39	64	$6,5 \pm 3,6$	5,6 – 7,4	7,0
	$\geq 40$	10	$14,7 \pm 4,1$	11,8 – 17,6	15,0
	Total	96	$6,5 \pm 4,6$	5,6 – 7,5	5,5
Vârsta Diaagnoza	19 – 29	22	$24,8 \pm 3,8$	23,1 – 26,5	26,0
	30 – 39	64	$27,7 \pm 3,3$	26,9 – 28,5	28,0
	$\geq 40$	10	$29,9 \pm 4,1$	27,0 – 32,8	30,5
	Total	96	$27,3 \pm 3,8$	26,5 – 28,0	27,0

## 2.2. Metode de cercetare generale

În cercetare au fost folosite următoarele metode:

Metodele generale de cercetare utilizate:

1. Metoda de comparație;
2. Metoda analitică;
3. Metoda de observație;
4. Metoda biostatistică.

Metodele paraclinice, clinico - genetice:

5. Consultul medico-genetic;
6. Evaluarea materialului seminal;
7. Evaluări hormonale;
8. Metode citogenetice, molecular genetice;

## 9. Biopsie testiculară/ICSI/FIV.

Metode de acumulare a datelor:

### 1. Directe:

- a) Interviu (anamneza);
- b) Consultul medico-genetic;
- c) Îndeplinirea formularului (de către investigator).

### 2. Indirecte:

- a) Date bibliografice (statistici oficiale, rapoarte, studii, sinteze);
- b) Extragerea datelor din documentația medicală: Registrul (pe suport de hârtie) de evidență a analizelor de spermă, Instituția Centrul Medical Repromed pentru anii 2012 – 2020, (colectarea parametrilor spermogramei); Formularul Nr. 209/e (rezultatele citogenetice, molecular genetice); Formularul Nr. 235/e (rezultatele markerelor endocrini); Formular Nr. 218/e (analiza la infecții urogenitale (din frotiu)); Formularul Nr. 210/e (examenul sumar al urinei) - Aprobate de Ministerul Sănătății al RM nr. 828 din 31.10.2011, Rapoarte medicale/urologie AOP-F08 (examene primare ale medicilor urologi).

Evaluarea profilului hormonal la bărbații cu deficiență testiculară, hipogonadismul hipergonadotrop este, de obicei, prezent cu niveluri ridicate ale FSH, LH și cu sau fără niveluri scăzute de testosteron. În general, nivelurile de FSH se corelează cu numărul de spermatogonii: atunci când spermatogoniile sunt absente sau numărul lor semnificativ diminuat, valorile FSH sunt, de obicei, crescute; când numărul de spermatogonii este normal, dar oprirea maturării există la nivel de spermatocite sau spermatide, valorile FSH sunt în limitele normale. Cu toate acestea, pentru fiecare pacient individual, nivelurile de FSH nu prezic cu exactitate starea spermatogenezei, deoarece bărbații cu histologie de stop al maturării ar putea avea FSH și volumul testiculelor normale și pot fi totuși azoospermici [28].

Evaluarea spermogramei reprezintă prima linie de investigare în diagnosticul infertilității masculine. Deciziile importante de diagnostic și tratament ale infertilității masculine se bazează pe rezultatele analizei spermogramei. Analiza spermogramei a servit instrumentul clinic de bază atât pentru evaluarea potențialului de fertilitate masculină, dar și pentru selectarea pacienților cu azoospermie pentru cercetare. Evaluarea spermogramei a fost realizată conform criteriilor și valorilor de referință stabilite de OMS în anul 2010 (Tabelul 6). Recoltarea probelor a fost făcută după abținerea de la ejaculare timp de 3 - 7 zile în condiții de laborator. Analiza spermogramei s-a efectuat prin metoda computerizată la analizatorul automat SQA IIC-P (Producător Medical Electronic Systems, SUA) (n=5767 spermograme) și cu verificare manuală (n=96 bărbați).

Tabelul 6. Parametrii și valorile de referință ale spermogramei conform OMS din 2010 [21]

Parametrii spermogramei	Valori de referință
<i>Abstineța (zile)</i>	3-7 zile
<i>Volum(ml)</i>	≥ 1,5 ml
<i>Culoare</i>	≤2 cm
<i>Timp de lichefiere</i>	≤60 min
<i>Vâscozitate</i>	2 cm
<i>pH</i>	≥7,2
<i>Leucocite</i>	≤ 1,0 mln/ml
<b>Concentrația spermatozoizilor (mln/ml)</b>	≥ 15 mln/ml
<i>Nr. total de spermatozoizi (mln/ejaculat)</i>	≥ 39 mln
<b>Mobilitate progresivă (%)</b>	≥ 32%
<i>Concentrația spermatozoizilor mobili (mln/ml)</i>	≥ 10 mln/ml
<i>Nr. total de spermatozoizi mobili (mln/ejaculat)</i>	≥ 15 mln
<i>Concentrația spermatozoizilor funcționali (mln/ml)</i>	≥ 7 mln/ml
<i>Nr total de spermatozoizi funcționali (mln/ejaculat)</i>	≥ 10,5 mln
<i>Indexul motilității</i>	≥ 80
<i>Forme normale(%)</i>	≥4%
<i>Viabilitate (%)</i>	≥ 58

Interpretarea rezultatelor, diagnosticul spermogramei a fost efectuată conform terminologiei descriptive ale aceluiași ghid fiind următoarele:

- normozoospermia: spermatozoizi cu număr total/procentul cu mobilitate progresivă și morfologie normală, situați ca valoare egală sau deasupra valorilor de referință.
- oligozoospermia: număr total de spermatozoizi/concentrația spermatozoizilor sub limitele normale.
- astenozoospermia: motilitatea spermatozoizilor < 40% sau motilitatea rapid progresivă < 32%.
- teratozoospermia: procentul de spermatozoizi normali morfologic se situează sub valorile normale sub 4%.
- oligoastenozoospermia: număr total de spermatozoizi mic și procentul de spermatozoizi mobili mai mic.

- oligoteratozoospermia: număr total de spermatozoizi mic și procentul celor normali morfologic situat sub limita valorii normale de referință.
- astenoteratozoospermia: procentul spermatozoizilor mobili și a celor morfologic normali se află sub limita valorii normale de referință.
- oligoastenoteratozoospermia: numărul total de spermatozoizi, a celor mobili și a celor morfologic normali se situează sub valorile normale de referință.
- criptozoospermia: spermatozoizi absenți în proba proaspătă, dar observați după centrifugare.
- necrozoospermia: număr mic de spermatozoizi vii, procent mare de spermatozoizi imobili în ejaculat.
- hipospermia: volumul spermei < 1,5 ml, – hiperspermie: volumul spermei > 5 ml.
- piospermia: prezența leucocitelor în spermă.
- hematospermia: prezența hematiilor în spermă.
- azoospermia: absența spermatozoizilor în ejaculat.
- aspermia: absența spermei sau ejaculare retrogradă [21].

### 2.3. Metode de investigare genetică

#### **Metoda moleculară – genetică multiplex PCR pentru detectarea microdelețiilor cromozomului Y din regiunea AZFa, AZFb, AZFc.**

Etapele analizei multiplex PCR:

- a. Recoltarea probelor ale materialului biologic (sânge periferic);
- b. Extragerea ADN-ului din sânge;
- c. Efectuarea reacției de polimerizare în lanț (PCR – polymerase chain reaction) utilizând primeri specifici;
- d. Verificarea amplificării ADN-ului prin electroforeză în gel de poliacrilamidă de 8%;
- e. Fotodocumentarea gelului și interpretarea rezultatelor.

Pentru identificarea microdelețiilor cromozomului Y a fost analizat ADN-ul genomic, izolat conform procedurii standard din sânge periferic prin tehnica multiplex PCR (Reacția de polimerizare în lanț).

- a. Recoltarea materialului biologic:

Probele de sânge sunt culese în tuburi de unică folosință cu EDTA (Etilendiaminotetraacetat), prin puncție venoasă. Tuburile cu sânge sunt păstrate în frigider la temperatura 2-8 °C timp de 1 săptămână, dacă nu se trece imediat la etapa următoare.

- b. Extragerea ADN-ului din sânge:



ADN-ul din probele prezentate este extras după metodologia standard, utilizând kitul "GeneJet Whole Genomic DNA Purification Mini Kit":

1. Din tubul cu proba colectată se ia o cantitate de 200  $\mu$ l sînge într-un tub de 1.5 ml.
2. La 200  $\mu$ l sînge se adaugă 20  $\mu$ l Proteinase K solution și se vortexează. Se adaugă 400  $\mu$ l Lysis soluție și se vortexează pînă la obținerea unei suspensii uniforme.
3. Se incubează la t-ra de 56°C / 10 minute în termostat; periodic se vortexează;
4. Se adaugă 200  $\mu$ l etanol (96-100%) și se pipetează;
5. Se transferă amestecul în coloane cu tub colector inclus.
6. Centrifugăm 1 minut la 6000 x g (=8000 rpm). Tubul colector cu conținut se aruncă, iar coloana se plasează într-un tub colector nou de 2 ml ce se include în kit;
7. Se adaugă 500  $\mu$ l soluție Wash Buffer WB I (cu etanol adăugat în prealabil);
8. Centrifugăm 1 minut la 8000 x g (=10 000 rpm). Vărsăm conținutul tubului colector;
9. Se adaugă 500  $\mu$ l soluție Wash Buffer WB II (cu etanol adăugat în prealabil);
10. Centrifugăm 3 minute la 20 000 x g (=14 000 rpm). Tubul colector cu conținut se aruncă, iar coloana se transferă într-o eprubetă de 1,5 ml.
11. Se adaugă 200  $\mu$ l sol. Elution Buffer în centrul membranei coloanei pentru a dilua ADN-ul genomic.
12. Se incubează la temperatura camerei - 2 minute;
13. Centrifugăm 1 minut la 8 000 x g (=10 000 rpm).
14. Pentru o cantitate maximă de ADN se repetă etapa de eluare cu 200  $\mu$ l soluție Elution Buffer adițional.
15. Coloana se aruncă, iar ADN-ul purificat se utilizează imediat pentru PCR sau se păstrează la temperatura de -20 °C.

c. Reacția de polimerizare în lanț pentru detectarea microdelețiilor Cromozomului Y:

Secvențele țintă utilizate sunt următoarele: AZFa (sY84, sY86, sDBY1, sY620); AZFb (sY127, sY134, sY117, sY143); AZFc (sY254, sY255, sY153, sY158); SRY și ZFX/ZFY (pentru control. Amorsele specifice utilizate pentru amestecul multiplex și lungimile produselor PCR sunt prezentate în (Tabelul 7).

Tabelul 7. Secvențele de primeri ale STSs (sequence-tagged-sites) utilizate în detectarea regiunilor AZF

Multiplex PCR set nr.	STS	Regiune Y	Secvența Primer	Mărime (bp)
1	<i>sY84</i>	AZFa	Forward 5' <i>AGAAGGGTCTGAAAGCAGGT</i> -3' Reverse 5' <i>GCCTACTACCTGGAGGCTTC</i> -3'	326 bp
	<i>sY134</i>	AZFb	Forward 5' <i>GTCTGCCTCACCATAAAACG</i> -3' Reverse 5' <i>ACCACTGCCAAAACCTTTCAA</i> -3'	301 bp
	<i>DBY1</i>	AZFa	Forward 5' <i>TATTGGCAATCGTGAAAGAC</i> -3' Reverse 5' <i>TGCCGGTTGCCTCTACTGGT</i> -3'	277 bp
	<i>sY255</i>	AZFc	Forward 5' <i>GTTACAGGATTCGGCGTGAT</i> -3' Reverse 5' <i>CTCGTCATGTGGCAGCCAC</i> -3'	126 bp
2	<i>sY254</i>	AZFc	Forward 5' <i>GGGTGTTACCAGAAGGCAAA</i> -3' Reverse 5' <i>GAACCGTATCTACCAAAGCAGC</i> -3'	400 bp
	<i>sY86</i>	AZFa	Forward 5' <i>GTGACACACAGACTATGCTTC</i> -3' Reverse 5' <i>ACACACAGAGGGACAACCCCT</i> -3'	320 bp
	<i>sY127</i>	AZFb	Forward 5' <i>GGCTCACAAACGAAAAGAAA</i> -3' Reverse 5' <i>CTGCAGGCAGTAATAAGGGA</i> -3'	274 bp
	<i>sY117</i>	AZFb	Forward 5' <i>GTTGGTTCATGCTCCATAC</i> -3' Reverse 5' <i>CAGGGAGAGAGCCTTTTACC</i> -3'	262 bp
3	<i>sY143</i>	AZFb	Forward 5' <i>GCAGGATGAGAAGCAGGTAG</i> -3' Reverse 5' <i>CCGTGTGCTGGAGACTAATC</i> -3'	311 bp
	<i>sY620</i>	AZFa	Forward 5' <i>GGCTGATATATTTAACC</i> -3' Reverse 5' <i>ACTCAAAACAACACAGTC</i> -3'	249 bp
	<i>sY158</i>	AZFc	Forward 5' <i>CTCAGAAAGTCCTCTAATAGTTCC</i> -3' Reverse 5' <i>ACAGTGGTTGTAGCGGGTA</i> -3'	231 bp
	<i>sY153</i>	AZFc	Forward 5' <i>GCATCCTCATTTTATGTCCA</i> -3' Reverse 5' <i>CAACCCAAAAGCACTGAGTA</i> -3'	139 bp
<i>Control intern pentru fiecare set</i>	<i>SY14</i>	ZFY	Forward 5' <i>ACCRCCTGACTGACTGTGATTACAC</i> -3' Reverse 5' <i>GCACYCTTTGGTATCYGAGAAAGT</i> -3'	495 bp
		SRY	Forward 5' <i>GAATATTCCTCGCTCTCCGGA</i> -3' Reverse 5' <i>GCTGGTGCTCCATTCTTGAG</i> -3'	472 bp

Principiul metodei multiplex PCR pentru detectarea microdelețiilor cromozomului Y: Pregătirea eprubetelor de tip eppendorf necesare la realizarea analizei, se marchează în dependență de numărul de probe, care necesită să fie supuse analizei, inclusiv, și probele controlului pozitiv intern (feminin XX), control pozitiv extern (masculin-norma) și negativ. Se prepară 4 seturi de eprubete cu același număr, dar care corespund la cele 2 seturi de primeri.

Pentru fiecare set de primeri: setul nr. I (ZFY, SRY, sY84, sY134, DBY1, sY255); setul nr. II (ZFY, SRY, sY254, sY86, sY127, sY117); setul nr. III setul nr IV (ZFY, SRY, sY143, sY620, sY158, sY153), se prepară mixul de reacție (per probă) cu volumul total de 25,5 μl, ce include: 2 μl ADN genomic extras; 2,5 μl Dream Taq Green buffer (+20mM MgCl<sub>2</sub>); 2,5 μl dNTP (dioxinucleotidtrifosfat); 0,5 μl de fiecare set de primer; 18 μl H<sub>2</sub>O; 0,4 μl Dream Taq polymerase.

Toate probele se pun în termociclul "Biometra", se introduce regimul de amplificare după cum urmează: denaturare inițială la 95°C timp de 3 minute; urmată de 40 de cicluri de denaturare

la 94°C timp de 30 s, alinierea primerilor la 59°C timp de 45 s, extensia catenei de ADN la 72°C timp de 50 s și o extindere finală la 72°C timp de 5 minute.

d. Fragmentele amplificate de ADN sunt analizate prin metoda separării electroforetice sub influența unui curent electric continuu într-un sistem-tampon continuu. ADN-ul este separat în gel de poliacrilamidă de 8%. În calitate de sistem-tampon de migrare se utilizează TBE 1X cu pH=8.0. Pentru prepararea soluției de TBE 10X se utilizează următoarele componente: 21,6 g Trisma base; 11,0 g Borat; 8 ml EDTA (0,5 M); H<sub>2</sub>O până la 200 ml. Pentru obținerea soluției de TBE 1X se diluează de 10 ori soluția inițială.

Prima etapă în efectuarea electroforezei este asamblarea matriței, care este alcătuită din 2 plăci de sticlă și 2 spațiatori din material plastic. Pentru prepararea gelului de poliacrilamidă de 8% se utilizează componentele ce urmează: 10,6 ml Acrilamidă/bis-acrilamidă 30%; 4ml TBE 10X; 400 μl PSA 10%; 40 μl TEMED; până la 40ml H<sub>2</sub>O. Matricea cu gelul preparat se introduce în cuva aparatului de electroforeză cu electrozii de platină asamblați; se umple cu soluția-tampon de migrare rezervoarele superior și inferior. Electrozii se conectează la sursa de curent continuu la 100 V -35 mA- 30minute, apoi 200 V-70mA- 4 ore. Preelectroforeza durează 15 minute, după care se stopează sursa de curent și se sondează probele de ampliconi (7,5 μl) în gel împreună cu un marker de greutate de 50 perechi de baze. Se conectează sursa de curent din nou.

Tabelul 8. **Fragmentele obținute în urma electroforezei produșilor PCR**

Control (XX)	Control XY (norma) I set	Control XY (norma) II set	Control XY (norma) III set	Control negativ
ZFY- 495 pb.	ZFY: 495 bp	ZFY : 495 bp	ZFY : 495 bp	
	SRY: 472 bp	SRY : 472 bp	SRY : 472 bp	
	sY84: 326 bp (AZFa)	sY254: 400 bp (AZFc)	sY143: 311 bp (AZFb)	
	sY134: 301 bp (AZFb)	sY86: 320 bp (AZFa)	sY620: 249 bp (AZFa)	
	DBY1: 277 bp (AZFa)	sY127: 274 bp (AZFb)	sY158: 231 bp (AZFc)	
	sY255: 126 bp (AZFc)	sY117: 262 bp (AZFb)	sY153: 139 bp (AZFc)	

e. Fotodocumentarea gelului și interpretarea rezultatelor. După migrare, se deconectează cuva aparatului de electroforeză de la sursa de curent continuu, se detașează și se dezassemblează matricea, iar gelul obținut este supus operațiunilor de colorare în soluție de Bromura de etidium (C=0.5 μg/ml) timp de 5 minute. La aparatul UV SOLO se vizualizează produșii PCR. În urma vizualizării, se obțin următoarele fragmente care sunt prezentate în tabelul (Tabelul 8).

### Metoda moleculară – genetică PCR pentru depistarea mutației în gena CFTR

Determinarea mutației  $\Delta F508$  în gena CFTR este recomandabilă pentru cazuri de infertilitate masculină inexplicabilă. Mutația  $\Delta F508$  în stare heterozigotă împreună cu altele în gena CFTR, determină absența bilaterală congenitală a vaselor deferente (CBAVD) la bărbați. În caz de confirmare a mutației, înainte de ICSI se recomandă testarea celuilalt partener datorită frecvenței înalte a heterozigoților.

Etapele analizei sunt următoarele:

- a. Recoltarea probelor de material biologic (5 mL sânge periferic în vacutainer ce conține EDTA ca anticoagulant )
- b. Extragerea ADN-ului din sânge după principiul clasic;
- c. Efectuarea reacției de polimerizare în lanț (PCR) utilizând primeri specifici pentru mutația del F508; se realizează după principiul următor.

Eprubetele de tip Eppendorf, se marchează în dependență de numărul de probe, care necesită să fie supuse analizei, inclusiv, și probele controlului pozitiv și negativ. Se prepară mixulul de reacție (per probă) cu volumul total de 25,5  $\mu$ l: ADN extras= 2  $\mu$ l; 10X Dream Taq; Green buffer (+20mM MgCl<sub>2</sub>) = 2,5  $\mu$ l; dNTP (2mM) = 2,5  $\mu$ l; H<sub>2</sub>O = 18  $\mu$ l; Dream Taq polymerase = 0,4  $\mu$ l; Primeri mix (5mM) = 0,5  $\mu$ l ce conține în cantități egale,

Forward primer cu secvența AATAATGATGGGTTTTATTTCCAG

Reverse primer cu secvența TGCATAATCAAAAAGTTTTTCACA

În eprubeta marcată cu „K +” (control pozitiv), se adaugă 2  $\mu$ l ADN cu genotipul cunoscut - control pozitiv, iar în eprubeta marcată cu „K -” (control negativ) nu se introduce nici - un ADN.

Toate probele se pun în termociclul “Briometra”, se introduce următorul regim de amplificare: denaturare inițială la 95°C timp de 3 minute; urmată de 33 de cicluri de denaturare la 94°C timp de 30 sec, alinierea primerilor la 54°C timp de 45 sec, extensia catenei de ADN la 72°C timp de 50 sec și o extindere finală la 72°C timp de 5 minute.

- d. Verificarea amplificării AND-ului prin electroforeză în gel de poliacrilamidă de 8%.

În urma vizualizării, se obțin următoarele fragmente: N/N (homozigot norma) 250 pb; N/ $\Delta F508$  (heterozigot purtător mutație) 250 pb, 247 pb;  $\Delta F508$ /  $\Delta F508$  (homozigot mutant) 247 pb.

- e. Fotodocumentarea gelului și interpretarea rezultatelor.

### Examenul citogenetic – Cariotiparea

Cromozomii sunt structuri vizibile numai în cursul diviziunilor celulare mitotice sau meiotice. Examenul citogenetic are ca scop analiza carotipului prin obținerea preparatelor cromozomiale, ce se efectuează prin următoarele etape:

- Obținerea de celule vii de la pacient. Celulele vii au fost obținute din limfocitele din sângele periferic, după prelevarea 1 – 2 ml de sânge periferic. În condiții aseptice se introduce 0,5 ml sânge heparinizat colectat într-un mediu de cultură specific (Lymphochrome medium) – 5ml per cultură. Limfocitele umane sunt capabile de activitatea mitotică după 48 – 72 ore de cultură care conține phytohemagglutin (PHA). Sub acțiunea PHA începe transformarea blastică a limfocitelor, indicele mitotic ajungând valori maxime după 70 – 72 ore de cultură.
- Blocarea diviziunii celulelor în etapa de metafază a mitozei. Se efectuează cu 1,5 – 2 ore înainte de a expira 72 ore de incubare. Se administrează 0,4 ml de soluție de colchicină, după expirarea timpului de incubare, suspensia celulară se transferă în eprubete și se centrifughează 5 – 8 min la 1000 rotații/min.
- Șocul hipotonic/ Hipotonizarea celulelor. După eliminarea supernatantului, sedimentul celular se resuspendă în 8 ml de soluție hipotonică de KCl (0,075 M), încălzită până la 37 grade. Se incubează 25 min în termostat la 37 grade, apoi se centrifughează din nou, supernatantul se elimină iar sedimentul se supune fixației.
- Fixarea celulelor. În calitate de fixator se utilizează fixatorul Carnoy acetic (alcool metilic + acid acetic glacial în proporție de 3:1. Este necesară pentru obținerea preparatelor cromozomiale cu o frecvență suficientă de metafaze bine dispersate în același plan și fără suprapuneri.
- Colorarea și bandarea cromozomilor. Cromozomii au fost colorați prin tehnica clasică de marcaj G (Giemsa), nivelul de rezoluție al benzilor fiind 550-575.
- Fotografierea, la microscop, a metafazelor care prezintă o bună separare a cromozomilor.
- Întocmirea și interpretarea cariotipului, conform nomenclurii din 2016 - International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN). Numărul de metafaze analizate au fost de 10 - 30, dintre care 5 – 10 cariotipate, crescând corespunzător survenirii celulelor anormale.

## 2.4. Tehnologii informaționale și procedee de analiză statistică a rezultatelor

În literatura științifică internațională au fost analizate datele actuale ce țin de tematica tezei de doctor, fiind accesate baze de date cu predilecție de profil medical: Google scholar, HINARI, ARDI, OARE. Au fost utilizate următoarele cuvintele cheie: male infertility, azoospermia, chromosomal karyotype, Klinefelter syndrome, Translocation, Inversion, Sex reversal, 47,XYY, Y chromosome micodeletions, AZFa region, AZFb region, AZFc region, CFTR gene mutation,  $\Delta$ F508, ICSI, TESE, microTESE, etc.

Rezultatele parametrilor materialului seminal ale n=5767 de spermograme, din anii 2012-2020 au fost introduse în baza de date Microsoft Access 2016. Rezultatele clinice și paraclinice ale n=96 pacienților cu azoospermie au fost acumulate în programul Excel 2016. Analiza statistică a datelor pentru ambele baze de date s-a efectuat cu ajutorul programei SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiunea 22.0 (SPSS Inc), același soft fiind utilizat pentru crearea tabelelor și figurilor ce oferă vizualizarea grafică a rezultatelor cercetării. Teza a fost redactată, utilizându-se programul Microsoft Office versiunea 2020.

Pentru analiza statistică a datelor, s-au aplicat teste parametrice și non-parametrice. Media aritmetică a fost utilizată pentru caracterizarea tendinței centrale la evaluarea indicatorilor spermogramei. Împreună cu devierea standard (DS), care caracterizează variabilitatea tendinței centrale, sunt utilizate pentru a sumariza caracteristicile indicatorului studiat. Pentru investigații primare s-a folosit coeficientul de corelație (Pearson), este o măsură a asocierii liniare dintre două variabile. Coeficientul de corelație ia valori între -1 și +1, inclusiv, cu semnificația de asociere pozitivă/negativă după semnul coeficientului și de lipsă de asociere pentru corelație egală 0.

Procedura ANOVA (Analiza Variației) a fost folosită pentru a compara, concomitent, mediile între mai multe subgrupuri de studiu (ani, gupe de vârstă, etc.) și se urmărește să se investigheze dacă există diferențe statistice. În rezultatul procedurii, se calculează statistica F, care se compară cu valoarea de referință tabelară. Dacă testul evidențiază diferențe semnificative ( $p < 0,05$ ), s-a continuat investigația prin comparația a câte două subploturi, folosind statistica t Student. De asemenea, s-a evaluat omogenitatea varianței în diferite subploturi prin aplicarea testului Lavene. La studierea unor indicatori, acest test evidențiază că distribuțiile sunt egale ( $p > 0,05$ ). Însă pentru o abordare consistentă, noi am dublat procedura ANOVA cu echivalentul său non-parametric testul după Kruskal-Wallis, care investighează diferențele dintre medianele în subploturi de diferită structură. Statistica folosită pentru desemnarea valorii p este  $\chi^2$ . Testul  $\chi^2$  (chi pătrat) al lui Pearson, de asemenea, a fost utilizat pentru compararea datelor proporționale.

Regresia liniară simplă a fost folosită pentru studierea tendinței liniare în indicatorii spermogramei în timp.

### 3. ANALIZA TENDINTELOR DE MODIFICARE A PARAMETRIILOR MATERIALULUI SEMINAL, ANII 2012-2020

Capitolul al treilea, include studierea fenomenului fertilității masculine prin prisma evaluării calității și cantității materialului seminal. Analiza efectuată cuprinde cercetarea indicatorilor materialului seminal pe un eșantion de n=5676 spermograme. Rezultatele spermogramelor sunt extrase din registrul unui singur centru de reproducere, în care nu este indicat numărul repetării spermogramei. Dar, noi considerăm că datele analizate sunt suficiente pentru a aprecia unele tendințe de modificare a parametrilor materialului seminal. Este prezentată evoluția tendinței prin regresia liniară a calității și cantității materialului seminal în perioada 2012-2020. Sunt analizate și schimbările în timp în eșantionul spermogramelor cu normozoospermie, precum și ponderea oligozoospermiei, oligoastenozoospermiei, astenozoospermiei și azoospermiei.

#### 3.1. Estimarea calității și cantității materialului seminal în întregul eșantion

Vârsta medie a bărbaților la momentul realizării spermogramei în timpul perioadei de studiu, pe întregul eșantionul (n=5767) a fost de  $37,4 \pm 6,3$  ani, (Î 95%: 37,3– 37,6; mediana: 37). Cea mai mare medie a vârstei s-a înregistrat în anul 2012 (n=200) ( $41,4 \pm 5,5$ ; Î 95%: 40,6– 41,0; mediana: 41), iar cea mai mică în anul 2020 (n=560) ( $33,5 \pm 5,5$ ; Î 95%: 33,0– 34,0; mediana: 33). Rata medie de descreștere anuală a mediei vârstei fiind de 2,1% (Tabelul 9).

Analiza mediilor (ANOVA:  $F=93,3$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor (ANOVA după Kruskal-Wallis:  $X^2=739,5$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) indică existența diferențelor statistice semnificative între ani. Analiza evoluției tendinței în timp a vârstei bărbaților s-a efectuat prin regresia liniară. Modelul:  $Vârsta = 59,9 - 0,09 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,112$ ;  $F=737,2$ ;  $p=0,001$ ). Acest model ne arată că descreșterea medie anuală a vârstei pacienților este de 0,09 ani ( $p=0,000$ ) (Tabelul 9, Figura 4).

Tabelul 9. Reprezentarea vârstei bărbaților la momentul realizării spermogramei 2012 și 2020

	Anul									Total
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Nr.abs	200	703	852	794	703	685	630	640	560	5767
<b>Vârsta ani</b>	<i>F= 93,3; p= 0,000</i> <i>KW X<sup>2</sup>=739,5; gl=8; p=0,000</i>									
Media	41,4	40,2	39,1	38,4	37,7	36,9	35,9	35,0	33,5	37,4
Devierea Standart	5,5	5,6	5,7	5,9	5,9	6,1	5,97	6,2	5,5	6,3
Î 95%-	40,6	39,8	38,7	38,0	37,2	36,5	35,5	34,5	33,0	37,3
Î 95%+	42,2	40,6	39,5	38,8	38,1	37,4	36,4	35,5	34,0	37,6
Mediana	41	40	38	37	37	36	35	34	33	37
Percentila 25	38	36	35	34	33	33	32	31	30	33
Percentila 75	45	44	42	42	41	40	39	39	36	41

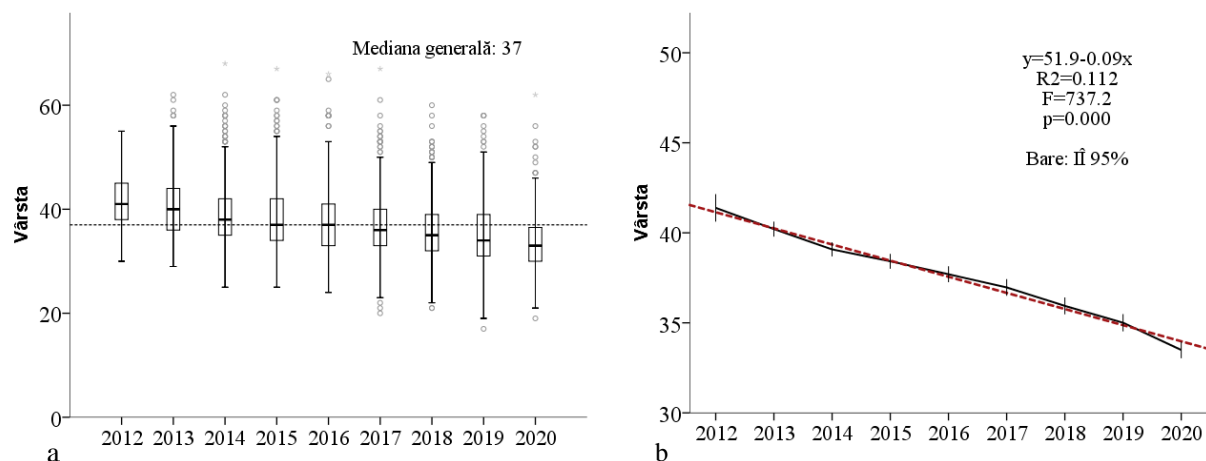


Figura 4. **Box plot (a) și linia regresiei (b) pentru vârstă în timp la bărbați la momentul realizării spermogramei**

Este dificil să afirmăm că adresabilitatea pacienților mai tineri din an în an se datorează creșterii ratei de infertilitate la populația mai tânără sau a conștientizării populației asupra problemei infertilității, dar tendința de micșorare a vârstei este evidentă în perioada de studiu.

#### **Volumul de material seminal – ml**

La întregul eșantion ( $n=5767$ ) media totală a volumului de material seminal produs la ejaculare în anii 2012-2020, a fost de  $2,87 \pm 1,1$  ml, (Î 95%: 2,8– 2,9; mediana: 2,9). Media volumului în anul 2012 este de  $3,0 \pm 1,2$  ml, (Î 95%: 2,8– 3,2; mediana 3,0), iar în anul 2020, ajunge de  $2,7 \pm 1,0$ ml, ( Î 95%: 2,6– 2,8; mediana 2,7), cu o rata anuală medie de descreștere a mediei de 1,1%. Analiza mediilor ( $F=12,1$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $X^2=73,4$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) indică existența diferențelor statistice semnificative între ani. Regresia liniară pentru examinarea schimbărilor în timp ale volumului s-a realizat prin modelul: Volumul de material seminal =  $3,5-0,04 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,015$ ;  $F=43,5$ ;  $p=0,000$ ), cu descreșterea medie anuală de 0,04 ml ( $p=0,000$ ), (Tabelul 10, Figura 5: a, b, Anexa 1, 4).

Media **pH-ului** în timpul perioadei de studiu pe întregul eșantionul ( $n=5767$ ) a fost de  $7,8 \pm 0,2$ , (Î 95%: 7,82- 7,83; mediana: 7,8). Media în acești ani a fluctuat între 7,79 și 7,85. Analiza mediilor (ANOVA:  $F=10,8$ ;  $p=0,000$ ) evidențiază existența diferențelor statistice semnificative între ani, însă nu este posibil de identificat o tendință, fapt confirmat și printr-un model de regresie fără semnificație statistică ( $F=0,002$ ;  $p=1,000$ ), (Tabelul 10, Figura 5: c, d, Anexa 1, 4).

#### **Concentrația spermatozozilor- milioane/ml**

Concentrația medie a spermatozozilor în timpul perioadei de studiu 2012-2020 pe întregul eșantion ( $n=5767$ ) a fost de  $39,0 \pm 33,3$  milioane/ml, (Î 95%: 38,2– 39,9; mediana: 29). În anul 2012 media este de  $48,6 \pm 38,1$  milioane/ml, (Î 95%: 43,3– 53,9; mediana: 41) și anul 2020, de  $34,7 \pm 29,1$ ; Î 95%: 32,3– 37,1; mediana: 26). Rata medie de descreștere anuală a mediei fiind de



3,2%. Evaluarea mediilor ( $F=23,0$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $X^2=146,3$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) arată existența diferențelor statistice semnificative între ani. Regresia liniară a rezultat modelul:  $\text{Concentrația}=75,1-2,2*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,025$ ;  $F=146,6$ ;  $p=0,001$ ), ce ne indică descreșterea medie anuală a concentrației spermatozoizilor de 2,2 milioane/ml ( $p=0,001$ ) (Tabelul 10, Figura 5: e, f, Anexa 1, 4).

#### **Numărul total de spermatozoizi - milioane/ejaculat**

Evaluarea parametrului spermogramei numărului total de spermatozoizi în probă, la întregul eșantion ( $n=5767$ ) a evidențiat media totală de  $112,1 \pm 109,3$  milioane, (ÎÎ 95%: 109,2-114,9; mediana: 74,5). Media scade în perioada de studiu de la  $142,5 \pm 125,9$  milioane, (ÎÎ 95%: 124,9-160,0; mediana: 110,5) până la  $93,4 \pm 88,2$  milioane, (ÎÎ 95%: 86,1-100,8; mediana: 66,5). Rata medie de descreștere anuală a mediei numărului total de spermatozoizi fiind de 3,8%. Media ( $F=28,6$ ;  $p=0,000$ ) și mediana ( $X^2=161,0$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) ne indică existența diferențelor statistice semnificative între ani, la fel și între perioade ( $F=162,8$ ;  $p=0,000$ ). Schimbarea tendinței s-a realizat prin modelul:  $\text{numărului total de spermatozoizi} = 241,2-8,0*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,029$ ;  $F=174,9$ ;  $p=0,000$ ), ce ne arată că descreșterea medie anuală a numărului total al spermatozoizilor este de 8,0 milioane ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 5: g, h, Anexa 1, 4).

#### **Mobilitatea progresivă (%)**

Media totală pentru parametrul mobilității progresive a fost de  $31,1 \pm 18,4(\%)$ , (ÎÎ 95%: 30,6– 31,6; mediana: 32). Media pentru parametrul menționat scade în perioada de studiu de la  $35,5 \pm 20,2(\%)$ , (ÎÎ 95%: 32,5– 38,2; mediana: 39) până la  $29,4 \pm 16,7(\%)$ , (ÎÎ 95%: 28,0– 30,8; mediana: 28). Rata medie de descreștere anuală a mediei mobilității progresive fiind de 1,9%. Rezultatele mediilor și medianelor argumentează existența diferențelor statistice semnificative între ani ( $F=16,2$ ;  $p=0,000$ ;  $X^2=124,4$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ). Evoluția tendinței a rezultat modelul:  $\text{Mobilitatea progresivă}=47,6-1,02*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,017$ ;  $F=100,9$ ;  $p=0,000$ ), cu o descreștere a mediei anuale de 1,02(%) ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 6: a, b, Anexa 2, 4).

#### **Concentrația spermatozoizilor mobili - milioane/ml**

Concentrația medie a spermatozoizilor mobili a fost de  $18,5 \pm 23,2$  milioane/ml, (ÎÎ 95%: 17,9– 19,1; mediana: 8,9), pe întreaga perioadă analizată. Se observă o scădere a concentrației de la  $25,5 \pm 29,2$  milioane/ml, (ÎÎ 95%: 21,5– 29,7; mediana: 15,9) până la  $16,6 \pm 23,1$  milioane/ml, (ÎÎ 95%: 14,9– 19,2; mediana: 7,8), cu o descreștere anuală a mediei de 3,6%. Evaluarea mediilor ( $F=19,1$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $X^2=131,5$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) ne arată existența diferențelor statistice semnificative între ani și între perioade ( $F=119,3$ ;  $p=0,000$ ). Regresia liniară:  $\text{Concentrația spermatozoizilor mobili} = 39,7-1,3*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,019$ ;  $F=114,8$ ;  $p=0,000$ ) cu descreșterea medie anuală de 1,3 milioane/ml ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 6: c, d, Anexa 2, 4).

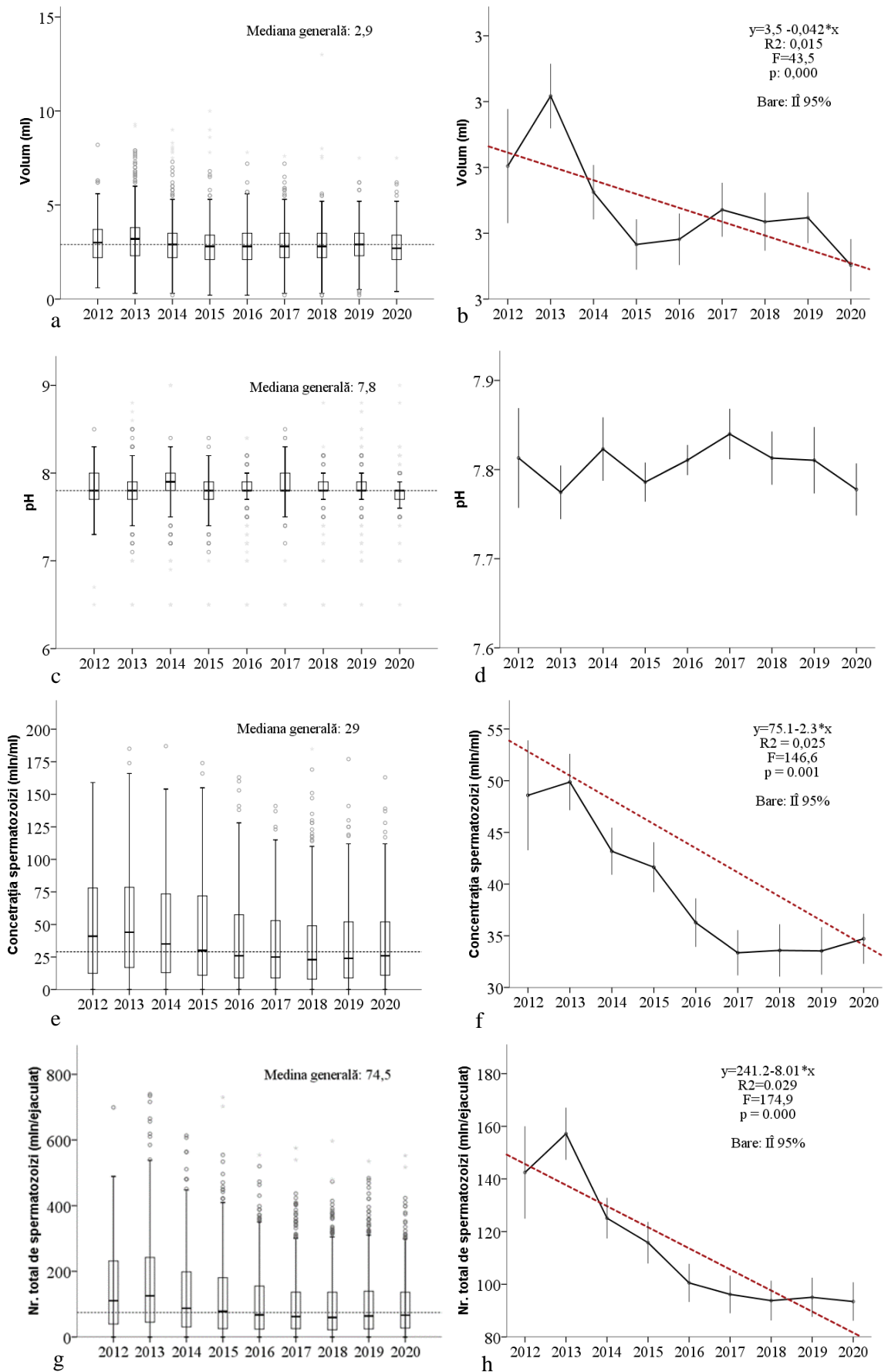


Figura 5. Box plot și linia regresiei pentru: a, b - volum ejaculat; c, d - pH-ul spermei; e, f - concentrația spermatozoizilor; g, h - nr. total spermatozoizi, perioada anilor 2012-2020

### Numărul total de spermatozoizi mobili - milioane/ejaculat

Evaluarea mediei parametrului spermogramei, numărului total de spermatozoizi mobili în probă, la întregul eșantion (n=5767) în 2012-2020 a evidențiat  $51,4 \pm 66,1$  milioane, (Î 95%: 49,7-53,1; mediana: 22,6). Rata medie de descreștere anuală a mediei numărului total de spermatozoizi mobili fiind de 4,7% - de la  $70,3 \pm 77,1$  milioane, (Î 95%: 59,5- 81,0; mediana: 45,0 ) până la  $51,3 \pm 65,7$  milioane, (Î 95%: 49,7-53,1; mediana: 22,6). Rezultatele mediilor (F=28,1; p=0,000) și medianelor ( $X^2=152,0$ ; gl=8; p=0,000) ne indică existența diferențelor statistice semnificative între ani și între perioadele agregate (F=165,6; p=0,000). Analiza regresiei liniare pentru evaluarea tendinței numărului total de spermatozoizi mobili în ejaculat a relatat următorul model: numărului total de spermatozoizi mobili =  $128,8-4,8 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2 = 0,029$ ; F=173,7; p=0,000), cu o descreștere medie anuală de 4,8 milioane (p=0,000) (Tabelul 10, Figura 6: e, f, Anexa 2, 4).

### Indexul mobilității

Pe parcursul perioadei cercetate, media totală a parametrului indexului mobilității în întregul eșantion (n=5767) a fost de  $106,6 \pm 88,3$  (Î 95%: 104,4 - 108,9; mediana: 76), indexul mobilității fiind în descreștere în fiecare an cu o rata medie de 3,3%. Conform mediilor (F=22,5; p=0,000) și medianelor ( $X^2=126,3$ ; gl=8; p=0,000) între anii analizați în studiu există diferențe statistice semnificative și între perioadele analizate (F=146,0; p=0,000). Modificarea tendinței pentru modelul: indexului mobilității= $204,6-6,1 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,026$ ; F=153,3; p=0,000), demonstrează că descreșterea medie anuală a indexului mobilității este de 6,1 (p=0,000) (Tabelul 10, Figura 6: g, h, Anexa 2, 4).

Tabelul 10. Regresia liniară simplă a parametrilor spermogramei la întregul eșantion anii 2012-2020

Parametrii spermogramei	Constanta	B	R2	F	P
Volum (ml)	3,5	-0,042	0,015	43,5	0,000
pH	7,8	0,001	0,005	0,1	0,718
Concentrația spermatozoidilor (mln/ml)	75,1	-2,3	0,025	146,6	0,001
Nr. total de spermatozoizi (mln/ml)	241,2	-8,01	0,029	174,9	0,000
Mobilitatea progresivă (%)	47,6	-1,02	0,017	109,9	0,000
Concentrația sperm. mobili (mln/ml)	39,7	-1,3	0,019	114,8	0,000
Nr. total de sperm. mobili (mln/ejaculat)	129,8	-4,8	0,029	173,7	0,000
Concentrația sperm. funcționali (mln/ml)	25,5	-0,9	0,002	120,6	0,000
Nr. total de sperm. funcționali (mln/ejaculat)	79,4	-3,1	0,027	158,0	0,000
Indexul mobilității	204,6	-6,1	0,026	153,3	0,000
Forme normale (%)	32,7	-0,7	0,017	96,0	0,000
Viabilitate (%)	108,3	-3,8	0,054	330,5	0,000

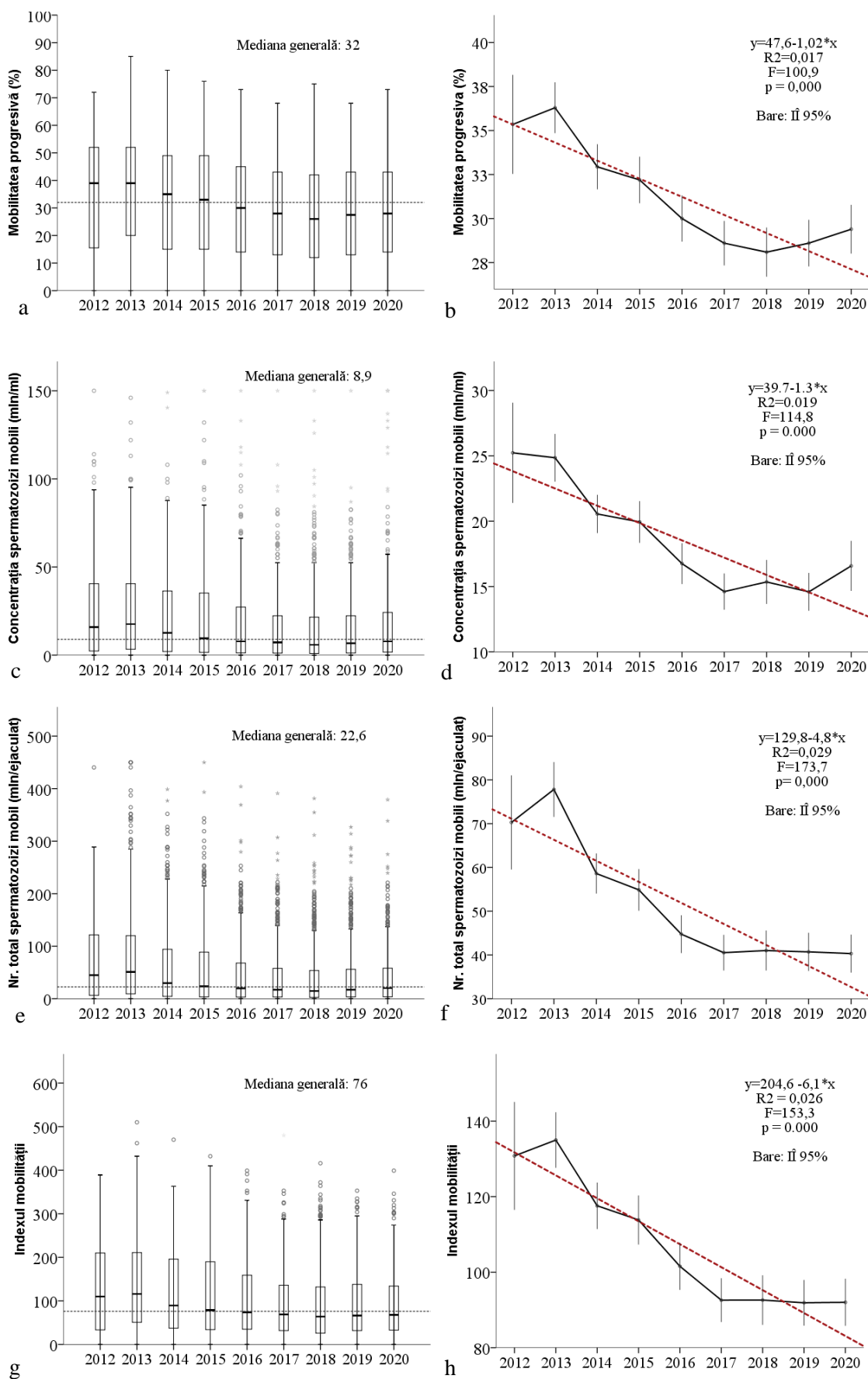


Figura 6. Box plot și linia regresiei pentru: a, b - mobilitatea progresivă; c, d - concentrația spermatozoizi mobili; e, f - nr. total spermatozoizi mobili; g, h - indexul mobilității, anii 2012-2020

### **Concentrația spermatozoizilor funcționali - milioane/ml**

Media concentrației de spermatozoizi funcționali este de  $10,6 \pm 15,1$  milioane/ml, (Î 95%: 10,2-11,0; mediana: 2,9) în anii 2012-2020. În anul 2012, media numărului de spermatozoizi funcționali este de  $15,5 \pm 18,4$  milioane/ml, (Î 95%: 12,9-18,1; mediana: 10,0), iar în anul 2020, de  $9,1 \pm 14,4$  milioane/ml, (Î 95%: 7,9-10,3; mediana: 2,8), cu o rata medie de descreștere a mediei de 3,9%. Între anii 2021-2020, conform mediilor ( $F=19,7$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $X^2=140,6$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) sunt diferențe statistice semnificative. Schimbarea tendinței parametrului concentrației de spermatozoizi funcționali, a fost realizată prin modelul: concentrația de spermatozoizi funcționali =  $25,5-0,9 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,002$ ;  $F=120,6$ ;  $p=0,000$ ). Analiza acestui model ne demonstrează că descreșterea mediei anuale a concentrației spermatozoizilor funcționali este de 0,9 milioane/ml ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 7: a, b, Anexa 3, 4).

### **Numărul total de spermatozoizi funcționali - milioane/ejaculat**

Media numărului total de spermatozoizi funcționali, în perioada analizată, este de  $29,6 \pm 44,3$  milioane, (Î 95%: 28,4- 30,7; mediana: 8,4). Media scade în această perioadă de la  $42,0 \pm 52,1$  milioane, (Î 95%: 34,7- 49,3; mediana: 18,8) până la  $22,5 \pm 35,5$  milioane, (Î 95%: 19,5- 25,4; mediana: 7,5). Astfel, rata medie de descreștere anuală a mediei numărului total de spermatozoizi funcționali este de 5,2%. Rezultatele mediilor ( $F=25,7$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $X^2=160,9$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) demonstrează diferențe statistice semnificative între ani și între perioadele analizate ( $F=155,5$ ;  $p=0,000$ ). Analiza regresiei liniare prin modelul: numărul total de spermatozoizi funcționali =  $79,4-3,1 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,027$ ;  $F=158,0$ ;  $p=0,000$ ), ne arată că descreșterea medie anuală a numărului total al spermatozoizilor funcționali este de 3,1 milioane în probă ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 7: c, d, Anexa 3, 4).

**Forme normale %** (procentul spermatozoizi cu forma normală din punct de vedere morfologic). Media pentru procentul de spermatozoizi cu forme normale în timpul perioadei de studiu pe întregul eșantionul ( $n=5767$ ) a fost de  $22,1 \pm 12,3$  (%), (Î 95%: 21,7– 22,4; mediana: 20). Rata medie de descreștere anuală a mediei fiind de 1,8%. Diferențe statistice semnificative ( $F=13,7$ ;  $p=0,000$ ;  $X^2=124,6$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) sunt între ani și perioade ( $F=146,0$ ;  $p=0,000$ ). Acest model ne arată că descreșterea medie anuală a mobilității progresive este de 0,6 (%) ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 7: e, f, Anexa 3, 4).

### **Vitalitatea %** (procentul de spermatozoizi viabili)

Transformarea tendinței parametrului procentul de spermatozoizi viabili în anii 2012-2020, prin analiza regresiei liniare, a rezultat modelul: procentul de spermatozoizi viabili =  $108,3-3,8 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,054$ ;  $F=330,5$ ;  $p=0,000$ ), descreșterea medie anuală a viabilității este de 3,8 (%) ( $p=0,000$ ) (Tabelul 10, Figura 7: g, h, Anexa 3, 4).

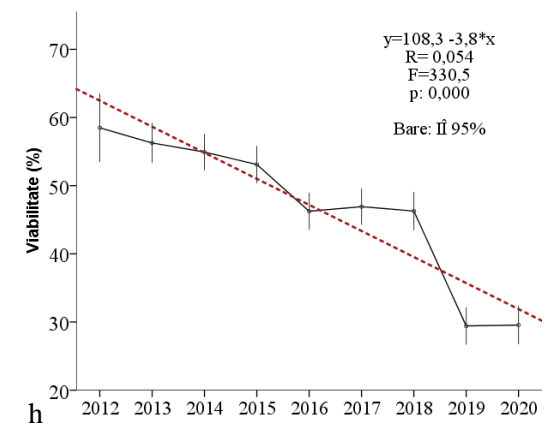
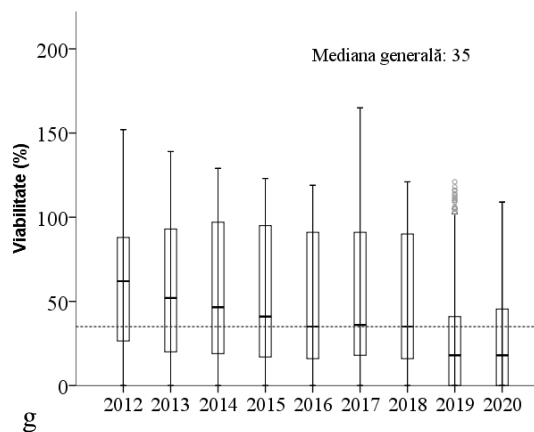
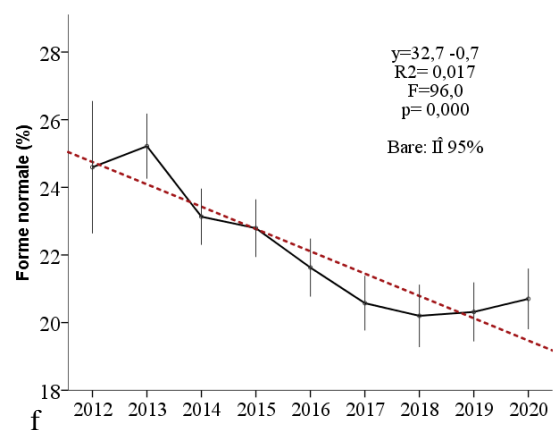
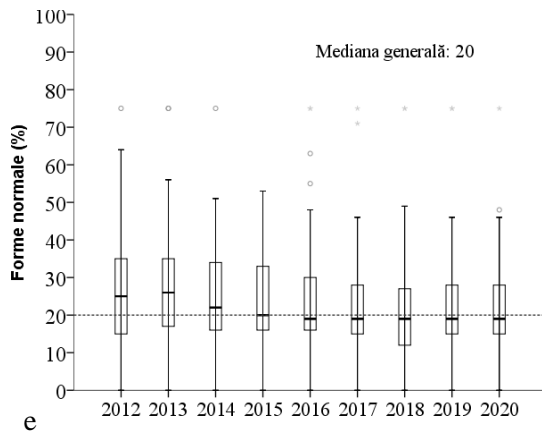
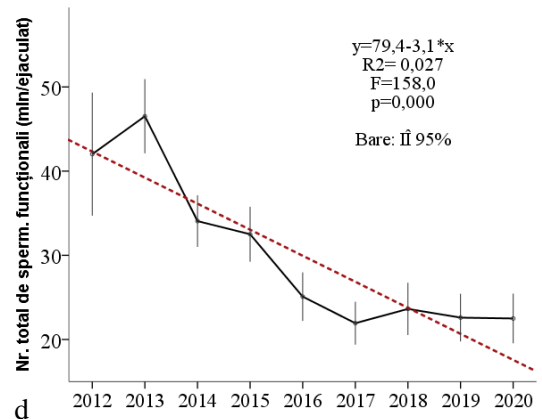
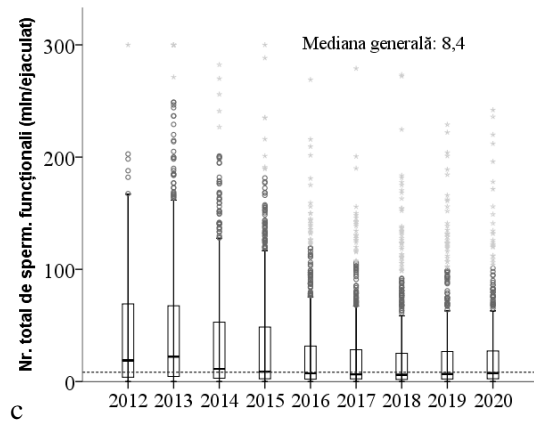
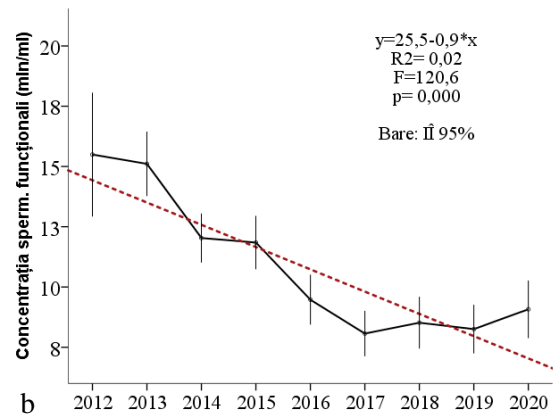
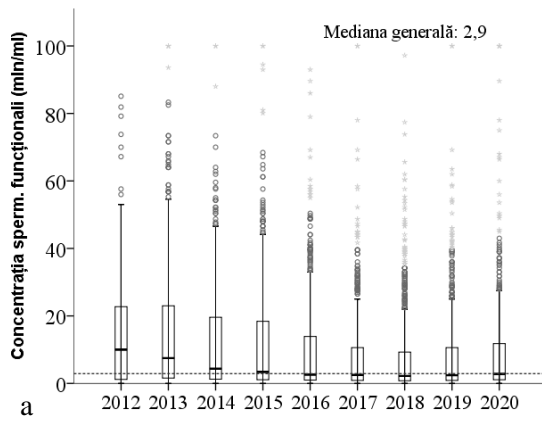


Figura 7. Box plot și linia regresiei pentru: a, b - concentrația spermatozoizi funcționali; c, d - nr. total spermatozoizi funcționali; e, f - forme normale, g, h - viabilitate, perioada anilor 2012-2020

Rezultatele evaluării parametrilor materialului seminal ( $n=5767$ ) demonstrează clar că cantitatea și calitatea materialului seminal scade în perioada de studiu 2012 -2020. Tendințele de scădere au fost semnificative pentru toți parametrii spermei: volumul de material seminal (de la  $3,0 \pm 1,2$  ml până la  $2,7 \pm 1,0$  ml, 1,1% pe an); concentrația spermatozoizilor ( $48,6 \pm 38,1$  milioane/ml până la  $34,7 \pm 29,1$  milioane/ml, 3,2% pe an); numărul total de spermatozoizi ( $142,5 \pm 125,9$  milioane până la  $93,4 \pm 88,1$  milioane, 3,8% pe an); mobilitatea progresivă ( $35,3 \pm 20,2$  % până la  $29,4 \pm 16,7$  %, 1,9% pe an); concentrația de spermatozoizi mobili ( $25,2 \pm 27,5$  milioane/ml până la  $16,6 \pm 23,1$  milioane/ml, 3,6% pe an); numărul total de spermatozoizi mobili ( $70,3 \pm 77,1$  milioane până la  $40,3 \pm 52,4$  milioane, 4,7% pe an); concentrația spermatozoizilor funcționali ( $15,5 \pm 18,4$  milioane/ml până la  $9,1 \pm 14,4$  milioane/ml, 3,9% pe an); numărul total de spermatozoizi funcționali ( $42,2 \pm 52,1$  milioane până la  $22,5 \pm 35,3$  milioane, 5,2% pe an); forme normale ( $24,6 \pm 14\%$  până la  $20,7 \pm 12\%$ , 1,8% pe an) și vitalitate ( $58 \pm 36\%$  până la  $30 \pm 34\%$ , 3,8% pe an) [117].

### **3.2. Estimarea calității și cantității materialului seminal în eșantionul cu normozoospermie**

Diagnosticul de normozoospermie se referă la parametrii materialului seminal, care îndeplinesc criteriile definite de OMS în spermogramă. În studiul actual, spermogramele cu normozoospermie au fost selectate conform valorilor de referință ale spermogramei OMS din 2010, fără a include prezența leucocitelor. Din întregul eșantion ( $n=5767$ ) al spermogramelor analizate, rezultatele cu parametrii spermogramei în limitele normale fiind ( $n=1685$ ).

La întregul eșantion ( $n=1685$ ) al spermogramelor cu normozoospermie media generală a volumului de material seminal produs la ejaculare în anii 2012-2020, s-a estimat de  $3,1 \pm 1,0$  ml, (Î 95%: 3,0 – 3,1; mediana: 3,0). Rata anuală medie de descreștere a mediei volumului de 1,04%. Între ani sunt diferențe statistice semnificative conform evaluării mediilor ( $F=5,1$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $KW X^2=28,2$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,001$ ). Analiza prin regresia liniară a rezultat prin următorul model: Volumul de material seminal =  $3,8-0,05 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,011$ ;  $F=18,2$ ;  $p=0,000$ ), care ne arată că descreșterea mediei anuale a volumului este de 0,05 ml ( $p=0,000$ ).

Media pH-ului la bărbații cu parametrii normali ai spermogramei a fost de  $7,8 \pm 0,19$  (%), (Î 95%: 7,79- 7,81; mediana: 7,8). Analiza prin regresia liniară nu a identificat asocieri între valoarea pH și ani.

Concentrația medie a spermatozoizilor pe întregul eșantion ( $n=1685$ ) a fost de  $75,7 \pm 21,8$  milioane/ml, (Î 95%: 74,6– 76,7; mediana: 76). Rata medie de descreștere anuală a mediei fiind de 1,4%. Evaluarea mediilor ( $F=6,3$ ;  $p=0,000$ ) și medianelor ( $X^2=52,8$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) ne semnalizează existența diferențelor statistice semnificative între ani. Modelul: regresiei liniare:

Concentrația =  $93,3 - 1,14 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2=0,013$ ;  $F=22,5$ ;  $p=0,000$ ), cu descreșterea mediei anuale a concentrației spermatozoizilor este de 1,14 mln/ml ( $p=0,000$ ), (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).

Tabelul 11. **Regresia liniară simplă a parametrilor spermogramei cu normozoospermie anii 2012-2020**

Parametrii spermogramei	Constanta	B	R2	F	P
Volum (ml)	3,8	-0,05	0,011	18,2	0,000
pH	7,7	0,01	0,001	2,4	0,122
Concentrația spermatozoizilor (mln/ml)	93,3	-1,14	0,013	22,5	0,000
Nr. total de spermatozoizi (mln/ml)	330,9	-6,61	0,022	38,6	0,000
Mobilitatea progresivă (%)	57,1	-0,41	0,015	25,4	0,000
Concentrația sperm. mobili (mln/ml)	50,7	-0,67	0,006	10,3	0,001
Nr. total de sperm. mobili (mln/ejaculat)	190,6	-4,55	0,023	40,3	0,000
Concentrația sperm. funcționali (mln/ml)	34,5	-0,65	0,009	14,8	0,000
Nr. total de sperm. funcționali (mln/ejaculat)	124,7	-3,41	0,024	40,8	0,000
Indexul mobilității	254,8	-3,13	0,013	22,8	0,000
Forme normale (%)	39,3	-0,31	0,014	23,7	0,000
Viabilitate (%)	89,5	0,52	0,012	20,4	0,000

Media totală a numărului total de spermatozoizi  $229,4 \pm 96,6$  milioane, (Î 95%: 224,7-234,0; mediana: 215), cu o rată medie de descreștere anuală de 2,4%. Între ani ( $KW X^2=46,6$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) sunt diferențe statistice semnificative. Regresia liniară prin modelul: numărului total de spermatozoizi =  $330,9 - 6,6 \cdot \text{Anul}$ , ( $R^2 = 0,022$ ;  $F=38,6$ ;  $p=0,000$ ), cu descreșterea mediei anuale de 6,6 milioane ( $p=0,000$ ) (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).

Media totală pentru parametrul mobilității progresive în rândul bărbaților cu spermograma normală a fost de  $50,8 \pm 7,3$  (%), (Î 95%: 50,5– 51,2; mediana: 50). Rata medie de descreștere anuală a mediei mobilității progresive fiind de 0,7%. Analiza medianelor ne argumentează existența diferențelor statistice semnificative între ani ( $KW X^2= 50,5$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).

Concentrația medie a spermatozoizilor mobili a fost de  $40,4 \pm 18,8$  milioane/ml, (Î 95%: 39,5– 41,3; mediana: 38). Media cea mai înaltă a concentrației spermatozoizilor mobili în anul 2013 ( $n=297$ ) ( $43,5 \pm 21,3$ ; Î 95%: 41,1– 46,0; mediana: 40,5), iar cea mai mică în anul 2020 ( $n=81$ ) ( $34,3 \pm 22,5$ ; Î 95%: 22,5– 29,3; mediana: 39,3). Rata medie de descreștere anuală a mediei fiind de 1,7%. ( $KW X^2=42,4$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ) (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).

Evaluarea mediei parametrului spermogramei, numărului total de spermatozoizi mobili în probă, a evidențiat  $120,6 \pm 65,1$  milioane, (Î 95%: 117,5- 123,7; mediana: 106,7). Rata medie de descreștere anuală a mediei numărului total de spermatozoizi mobili fiind de 3,2% sau 4,6 milioane ( $p=0,000$ ) (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).



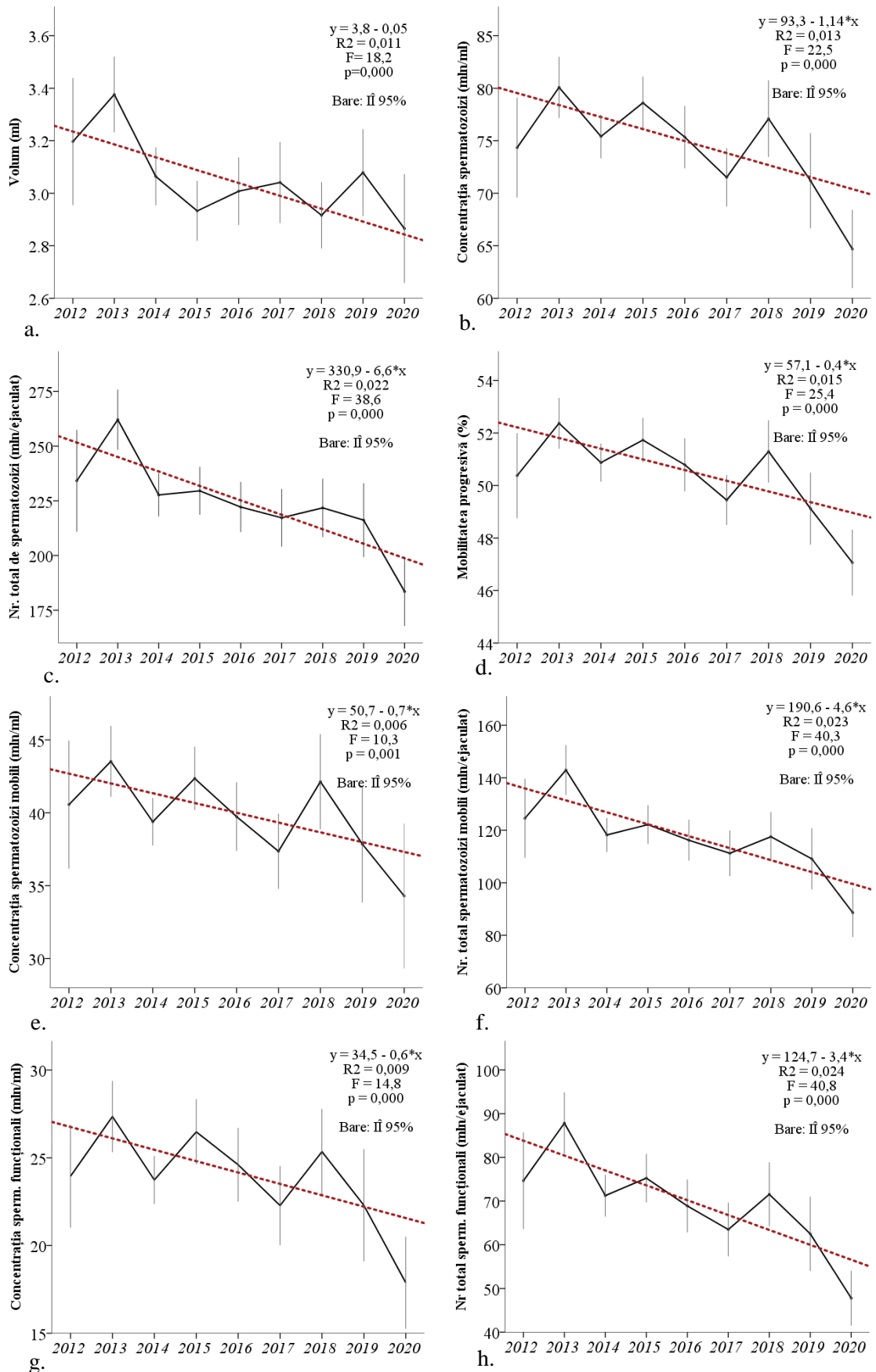


Figura 8. Linia regresiei: a. volum ejaculat; b. concentrația spermatozoizi; c. nr. total spermatozoizi; d. mobilitatea progresivă a spermatozoizi; e. concentrația/ f. nr. total sperm. mobili; g. concentrația/ h. nr. tot sperm. funcționali, la bărbații cu normozoospermie

În urma analizei concentrației de spermatozoizi funcționali, s-a constatat media totală de  $24,6 \pm 15,2$  milioane/ml, (ÎÎ 95%: 23,8- 25,3; mediana: 21). Rata medie de descreștere pentru fiecare an din 2012-2020, a mediei concentrației de spermatozoizi funcționali fiind de 2,8%, (KW  $X^2=44,6$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ). Modelul: concentrația de spermatozoizi funcționali =  $34,5-0,6*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,009$ ;  $F=14,8$ ;  $p=0,000$ ), indică că descreșterea mediei anuale a concentrației spermatozoizilor funcționali este de 0,6 milioane/ml ( $p=0,000$ ), (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).

Media totală a parametrului numărului total de spermatozoizi funcționali în probă a fost de  $72,3 \pm 48,4$  milioane, (ÎÎ 95%: 70,0-74,7; mediana: 59). Rata medie de descreștere anuală a mediei numărului total de spermatozoizi funcționali fiind de 4,0%, (KW  $X^2=54,9$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ). Modelul: numărul total de spermatozoizi funcționali =  $124,7-3,4*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,024$ ;  $F=40,8$ ;  $p=0,000$ ), cu descreșterea mediei anuale de 3,4 milioane în probă ( $p=0,000$ ), (Tabelul 11, Figura 8, Anexa 5).

La întregul eșantion ( $n=1625$ ), media totală a parametrului indexului mobilității a fost de  $206,7 \pm 59,2$  (ÎÎ 95%: 203,9- 209,5; mediana: 202). Indexul mobilității fiind în descreștere în fiecare an cu o rata medie de 1,4%, (KW  $X^2=50,9$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ). Modelul: indexului mobilității =  $254,8-3,1*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,013$ ;  $F=22,8$ ;  $p=0,000$ ), ne confirmă descreșterea medie anuală a indexului mobilității de 3,1 ( $p=0,000$ ) (Tabelul 11, Figura 9, Anexa 5).

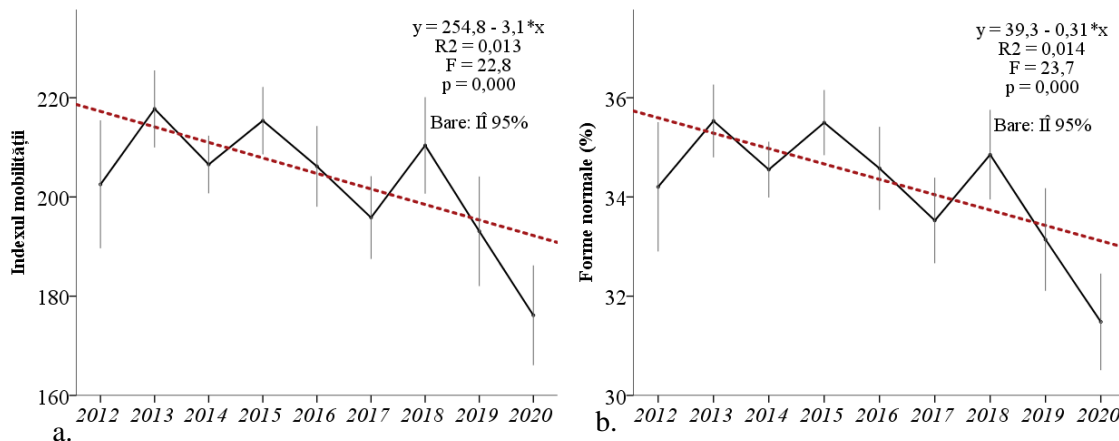


Figura 9. Linia regresiei rezultatelor spermogramei: a. indexul mobilității; b. forme normale

Media pentru procentul de spermatozoizi cu forme normale în timpul perioadei de studiu pe întregul eșantion ( $n=1685$ ) a fost de  $34,6 \pm 5,8$  (%), (ÎÎ 95%: 34,3– 34,8; mediana: 34). Rata medie de descreștere anuală a mediei fiind de 0,8%, (KW  $X^2=54,0$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ). Anual procentul de spermatozoizi vii a crescut cu o rată medie de creștere a mediei de 1,0%, (KW  $X^2=106,7$ ;  $gl=8$ ;  $p=0,000$ ). Modelul: procentul de spermatozoizi viabili =  $89,5+0,5*\text{Anul}$ , ( $R^2=0,012$ ;  $F=20,4$ ;  $p=0,000$ ), ne demonstrează că creșterea medie anuală a viabilității este de 0,5 (%) ( $p=0,000$ ), (Tabelul 11, Figura 9, Anexa 3).

### 3.3. Evaluarea rezultatelor spermogramelor, conform OMS 2010

În anii 2012-2020, din numărul total de (n=5767) de spermograme analizate, 29,2% (n=1685), au prezentat valori normale ale materialului seminal - normozoospermie și 70,8% (n=4082) tulburări de spermatogeneză. Pe întreaga perioadă de studiu, au fost semnalate diferențe statistice semnificative  $X^2=352,7$ ;  $gl=40$ ;  $p=0,000$ . Cea mai frecventă anomalie a spermatogenezei a fost înregistrată astenozoospermia în 35% (n=2016), urmată de oligozoospermia în 27,8% (n=1606), azoospermia 3,9% (n=224), oligoastenozoospermia 2,5% (n=143) și oligoastenoteratozoospermia 1,6% (n=93), (Tabelul 12, Figura 10, Anexa 6).

Tabelul 12. Repartizarea eșantionului conform rezultatelor spermogramei pe perioade agregate

Diagnostic spermograme	Anii						$X^2$ ; $gl$ ; $p$
	2012-2015		2016-2020		Total		
	n	%	n	%	n	%	
<b>Normozoospermia</b>	986	38,7	699	21,7	1685	29,2	$X^2=2,2$ ; $gl=1$ ; $p=0,136$
<b>Oligozoospermia</b>	587	23,0	1019	31,7	1606	27,8	$X^2=12,1$ ; $gl=1$ ; $p=0,001$
<b>Oligoastenoteratozoospermia</b>	39	1,5	54	1,7	93	1,6	$X^2=3,3$ ; $gl=1$ ; $p=0,071$
<b>Astenozoospermia</b>	756	29,7	1260	39,2	2016	35,0	$X^2=0,4$ ; $gl=1$ ; $p=0,530$
<b>Oligoastenospemia</b>	60	2,4	83	2,6	143	2,5	$X^2=0,1$ ; $gl=1$ ; $p=0,795$
<b>Azoospermia</b>	121	4,7	103	3,2	224	3,9	$X^2=3,2$ ; $gl=1$ ; $p=0,075$
<b>Total</b>	2549	100	3218	100	5767	100	$X^2=224,1$ ; $gl=5$ ; $p=0,000$

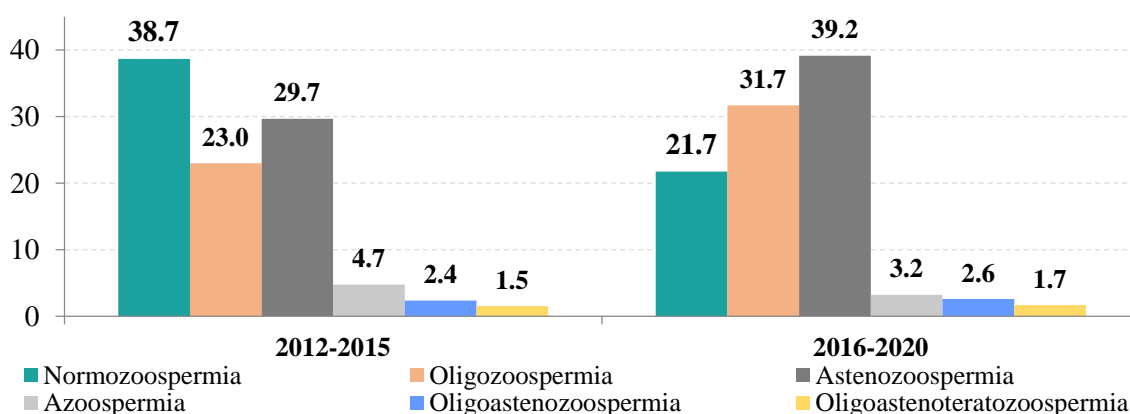


Figura 10. Distribuția rezultatelor spermogramei pe perioade agregate

În anul 2012, normozoospermia a fost înregistrată în 46,5% (n=93) și în anul 2020, ajunge la 14,5% (n=81). Se observă un declin a valorilor normale ale spermatogenezei, cu o rată anuală medie de descreștere de 7,6%, în anii 2012-2015 fiind de 38,7% (n=986) și în anii 2016-2020 de 21,7% (n=699), (Tabelul 12, Figura 11, Anexa 6).

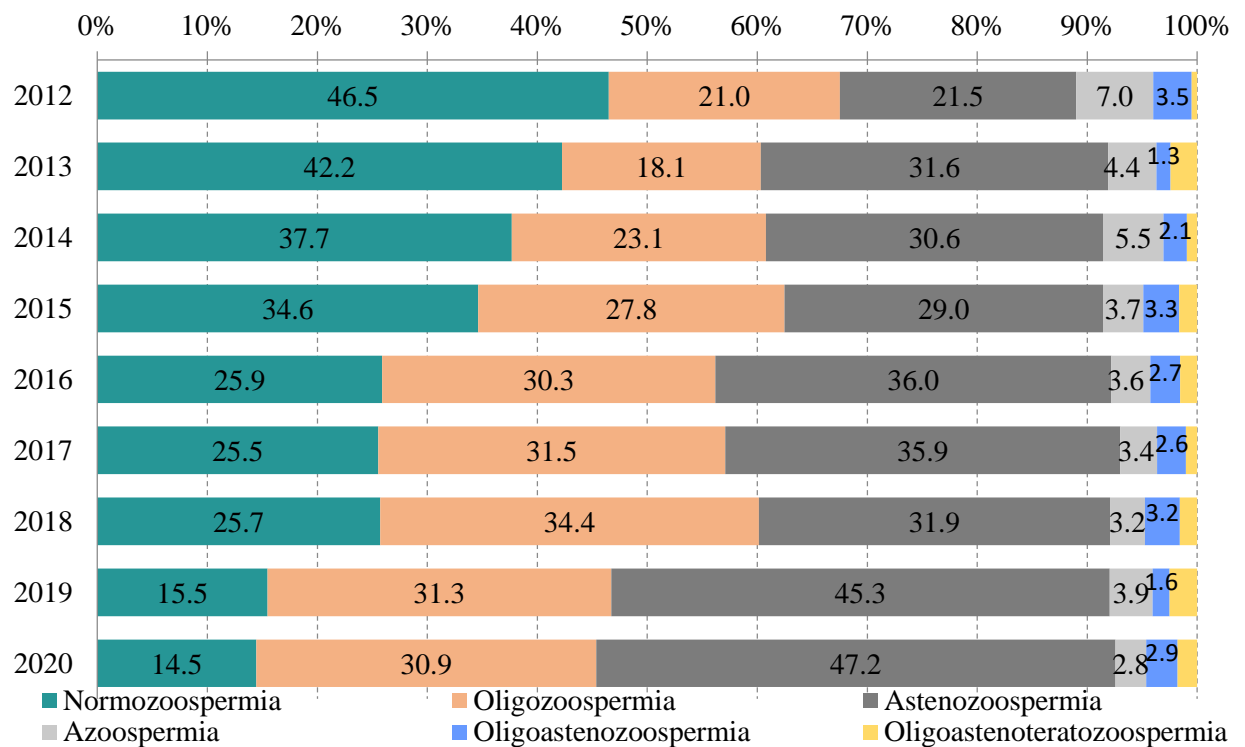


Figura 11. Clasificarea materialului seminal pe criterii diagnostice în perioada anilor 2012- 2020

În anul 2012, astenozoospermia a fost depistată în 21,5% (n=43) și anul 2020, în 47,2% (n=265), cu o rată anuală de creștere de 13,2%. Oligozoospermia observăm creștere de-a lungul anilor de studiu, de la 21% (n=42) până la 30,9% (n=173), cu o rată anuală de 5,2%. Inclusiv, de-a lungul anilor, crește și oligoastenozoospermia de la 2,4% la 2,6%, și oligoastenoteratozoospermia de la 1,5 la 1,6%. Cazurile cu azoospermie au fost diagnosticate cele mai multe în anul 2012 de 7%, și 2014 de 5,5%.

Rezultatele descrise indică faptul că, în perioada 2012-2020, calitatea și cantitatea materialului seminal este în scădere continuă și rapidă. Considerăm că, analiza tendințelor regionale a parametrilor spermei este necesară și poate fi utilizată ca un factor indirect în evaluarea stării actuale a fertilității masculine. Pe viitor, este necesar să se efectueze diverse studii de cercetare pentru a afla cauzele majore care duc la scăderea calității și cantității materialului seminal.

După cum sugerează mai mulți autori, cauzele deteriorării indicatorilor materialului seminal nu sunt pe deplin elucidate. Considerăm, că factorii de mediu și stilul de viață pot influența asupra spermatogenezei. De asemenea, nu putem exclude contribuția factorilor genetici, care controlează nemijlocit calitatea și cantitatea spermatozoizilor [33, 44, 46, 117].

## 4. ASPECTE FENOTIPICE ȘI GENETICE ALE BĂRBAȚILOR CU AZOOSPERMIE

În acest capitol, sunt prezentate particularitățile fenotipice ale bărbaților cu azoospermie (n=96). Tot în acest compartiment, sunt expuse rezultatele evaluării investigațiilor citogenetice (variațiile cromozomiale) și molecular-genetice (microdelețiile cromozomului Y și mutațiile în gena CFTR) în corelație cu manifestările fenotipice la bărbații cu azoospermie. Este evaluat rolul consultului medico-genetic pentru cuplurile cu infertilitate prin prisma rezultatelor obținute pentru fiecare caz cercetat. Sunt descrise opțiunile de tratament reproductiv al pacienților cu anomalii cromozomiale, microdeleții în regiunea AZFa, AZFb, AZFc și mutații în gena CFTR, atunci când cuplul cu infertilitate masculină legată de azoospermie optează pentru tratament în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată.

### 4.1. Particularitățile fenotipice ale bărbaților azoospermici cu variații ale cariotipului, deleții AZF, mutații CFTR depistate și fără variații genetice depistate

În urma investigațiilor molecular genetice (testarea microdelețiilor cromozomului Y și testarea genei CFTR) și citogenetice (cariotipare prin bandare G), bărbații cu azoospermie investigați (n=96) au fost repartizați în două subloturi: sublotul 1 – (n=35) pacienți cu variații genetice prin testele genetice propuse și sublotul 2 – (n=61) pacienți fără variații genetice prin testele genetice disponibile. Dintre pacienții depistați cu variații genetice 25% (n=24) au cariotip anormal, 10,4% (n=10) prezintă microdeleții Y, 2,1% (n=2) au cariotip anormal + microdeleții Y și 3,1% (n=3) au mutații în gena CFTR (Figura 12).

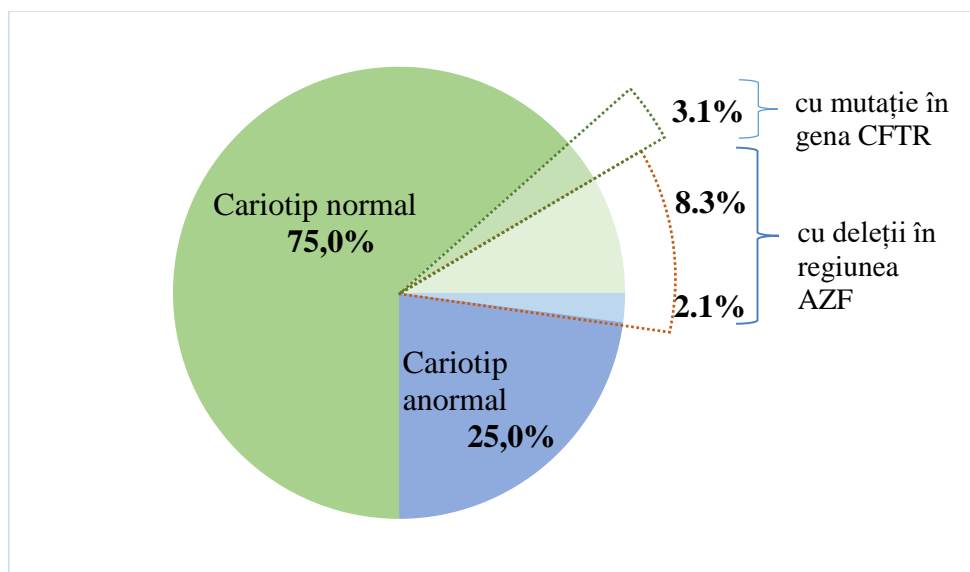


Figura 12. Structura incidenței cauzelor genetice confirmate prin teste molecular-genetice și citogenetice la bărbații cu azoospermie (n=96)

Pacienții din ambele subloturi au fost analizați pe grupe de vârstă. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 12.

Tabelul 13. **Rezultatele testelor genetice la bărbații cu azoospermie pe grupe de vârstă**

Rezultate genetice	Vârsta ani						Total		
	19 - 29		30 - 39		≥40		n=96	%	
	n=22	%	n=64	%	n=10	%			
cu variații genetice (Sublot 1)	<b>4</b>	<b>18,2</b>	<b>28</b>	<b>43,8</b>	<b>3</b>	<b>30,0</b>	<b>35</b>	<b>36,5</b>	
fără variații genetice (Sublot 2)	18	81,8	36	56,2	7	70,0	61	63,5	
Citogenetice	cariotip normal	20	90,9	45	70,3	7	70,0	72	75,0
	cariotip cu anomalii	<b>2</b>	<b>9,1</b>	<b>19</b>	<b>29,7</b>	<b>3</b>	<b>30,0</b>	<b>24</b>	<b>25,0</b>
Molecular Genetice (AZF)	fără deleție AZF	20	90,9	57	89,1	9	90,0	86	89,6
	cu deleție AZF	<b>2</b>	<b>9,1</b>	<b>7</b>	<b>10,9</b>	<b>1</b>	<b>10,0</b>	<b>10</b>	<b>10,4</b>
Molecular Genetice (CFTR)	fără mutație CFTR	22	100	61	95,3	10	100	93	96,9
	cu mutație CFTR			<b>3</b>	<b>4,7</b>			<b>3</b>	<b>3,1</b>

Repartizarea pacienților din sublotul 1 în dependență de grupele de vârstă nu a prezentat diferențe statistice semnificative ( $\chi^2=4,82$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,09$ ). Dintre pacienții cu vârsta 30 - 39 ani 43,8% (n=28) au fost diagnosticați cu variații genetice prin testele genetice în comparație cu grupul de vârstă  $\geq 40$  ani în care ponderea acestora a fost de 30,0% (n=3) și 19 - 29 ani de 18,2% (n=4). Respectiv, ponderea pacienților care nu au fost diagnosticați cu variații genetice prin testele genetice au fost 56,2% (n=36), 70,0% (n=7) și, respectiv, 81,8% (n=18) pentru grupele de vârstă menționate anterior. Dintre pacienții cu vârsta  $\geq 40$  ani 30,0% (n=3) au avut modificări în cariotip și 70,0% (n=7) au prezentat cariotip normal. La pacienții cu vârsta de 30 - 39 ani la 29,7% (n=19) a fost identificat cariotip anormal și 70,3% (n=45) au prezentat cariotip normal. La grupa de vârstă 19 - 29 ani cariotip anormal au prezentat doar 9,1% (n=2) fără diferențe statistice semnificative ( $\chi^2=3,85$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,145$ ). Analiza rezultatelor obținute atestă o repartizare omogenă a pacienților ce au prezentat microdeleții ale cromozomului Y pe grupele de vârstă. Dintre pacienții cu vârsta 30 - 39 ani în 10,9% (n=7) au fost diagnosticați cu deleție în regiunea AZF la vârsta de 19 - 29 ani 9,1% (n=2) și, respectiv, vârsta  $\geq 40$  ani 10,0% (n=1). De menționat faptul, că toți pacienții (n=3) care au fost diagnosticați cu mutații în gena CFTR, au avut vârsta de 30 - 39 ani (Tabelul 13).

Cu regret, majoritatea pacienților în 73,8% (n=31) au fost diagnosticați cu modificări genetice la o vârstă tardivă  $\geq 30$  ani, ce descriu o situație alarmantă a sistemului medical. Cauzele fiind multiple: lipsa adresabilității pacienților; lipsa îndreptării pacienților la consultul medico-genetic; neconlucrarea medicilor în echipe multidisciplinare etc.

În continuare, am analizat particularitățile subloturilor în dependență de vârsta pacienților și istoricul infertilității (Tabelul 14 și Tabelul 15). Vârsta medie a bărbaților azoospermici în

sublotul 1 de studiu (n=35) a fost de 34,1 ±4,3 ani, (ÎÎ 95%: 32,6 – 35,6; mediana: 34,0) și în sublotul 2 de 33,6 ±5,8 ani, (ÎÎ 95%: 32,1 – 35,1; mediana: 33,0) (Tabelul 14).

Tabelul 14. Vârsta și istoria infertilității la bărbații cu azoospermie în lotul de cercetare

		Sublot 1	Sublot 2	Total
		n=35	n=61	n=96
Vârsta (ani)	Media ± DS	34,1 ± 4,3	33,6 ±5,8	33,8 ±5,3
	ÎÎ 95%	32,6 – 35,6	32,1 – 35,1	32,7 – 34,9
	Mediana	34,0	33,0	33,0
	Percentila 25 – 75	31,0 – 36,0	29,0 – 37,0	30,0 – 36,0
	Minim – Maxim	28,0 – 47,0	19,0 – 52,0	19,0 – 52,0
Istoria infertilității (ani) <i>F= 0,002;</i> <i>P=0,968</i>	Media ± DS	6,5 ±3,6	6,4 ±5,1	6,4 ±4,6
	ÎÎ 95%	5,2 – 7,7	5,1 – 7,7	5,5 – 7,4
	Mediana	7,0	4,0	5,0
	Percentila 25 – 75	3,0 – 8,0	2,0 – 10,0	3,0 – 9,0
	Minim – Maxim	1,0 – 14,0	1,0 – 20,0	1,0 – 20,0
Vârsta la diagnoză (ani) <i>F=0,415;</i> <i>p=0,521</i>	Media ± DS	27,7 ±3,6	27,2 ±3,3	27,4 ±3,4
	ÎÎ 95%	26,4 – 28,9	26,3 – 28,0	26,7 – 28,1
	Mediana	28,0	27,0	27,0
	Percentila 25 – 75	25,0 – 30,0	25,0 – 30,0	25,0 – 30,0
	Minim – Maxim	21,0 – 35,0	18,0 – 34,0	18,0 – 35,0

Media istoriei infertilității la eșantionul de studiu 1 a fost de 6,5 ±3,6 ani, (ÎÎ 95%: 5,2 – 7,7; mediana 7,0) și eșantionul 2 de studiu de 6,4 ±5,1 ani, (ÎÎ 95%: 5,1 – 7,7; mediana 4,0). În sublotul de studiu 1, media de vârstă la care s-a diagnosticat infertilitatea este de 27,3 ±3,6 ani, (ÎÎ 95%: 26,4 – 28,9; mediana 28,0) și în sublotul 2 de referință 27,3 ±3,3 ani, (ÎÎ 95%: 26,3 – 28,0; mediana 27,0) (Tabelul 14).

Tabelul 15. Vârsta și istoria infertilității la bărbații azoospermici cu mutații genice și cromozomiale

		Nr. abs.	Media ±DS	ÎÎ 95%	Mediana	Minim – Maxim
Vârsta (ani)	Mutație CFTR	3	34,7 ±0,6	33,2 – 36,1	35,0	34 – 35
	Deleții AZF	10	33,0 ±3,7	30,3 – 35,7	33,0	28 – 40
	Cariotip anormal	22	34,5 ±4,9	32,4 – 36,7	34,0	28 – 47
	Total	35	34,1 ±4,3	32,6 – 35,6	34,0	28 – 47
Istoria infertilității (ani) <i>F=8,44;</i> <i>p = 0,001</i>	Mutație CFTR	3	13,0 ±1,0	10,5 – 15,5	13,0	12 – 14
	Deleții AZF	10	5,0 ±2,7	3,0 – 7,0	4,0	2 – 9
	Cariotip anormal	22	6,2 ±3,2	4,8 – 7,6	7,0	1 – 14
	Total	35	6,5 ±3,6	5,2 – 7,7	7,0	1 – 14
Vârsta la diagnoză (ani) <i>F=5,75;</i> <i>p = 0,007</i>	Mutație CFTR	3	21,7 ±0,6	20,2 – 23,1	22,0	21 – 22
	Deleții AZF	10	28,0 ±2,5	26,2 – 29,8	28,0	24 – 31
	Cariotip anormal	22	28,3 ±3,6	26,7 – 29,9	28,0	24 – 35
	Total	35	27,7 ±3,6	26,4 – 28,9	28,0	21 – 35

La pacienții cu mutații în gena CFTR care se confruntă cu infertilitatea în cuplu vârsta medie a fost de  $34,7 \pm 0,6$  ani, (ÎÎ 95%: 33,2 – 36,1; mediana: 35,0), cu media totală a infertilității de  $13,0 \pm 1,0$  ani, (ÎÎ 95%: 10,5 – 15,5; mediana: 13,0) și media la care au fost diagnosticați de  $21,7 \pm 0,6$  ani, (ÎÎ 95%: 20,2 – 23,1; mediana: 22,0). Vârsta medie a pacienților ce au prezentat deleții în regiunea AZF a fost de  $33,0 \pm 3,7$  ani, (ÎÎ 95%: 30,3 – 35,7; mediana: 33,0), cu medie totală a infertilității de  $5,0 \pm 2,7$  ani, (ÎÎ 95%: 3,0 – 7,0; mediana: 4,0) și media la care au fost diagnosticați de  $28,0 \pm 2,5$  ani, (ÎÎ 95%: 26,2 – 29,8; mediana: 28,0) (Tabelul 15).

Am analizat particularitățile materialului seminal al pacienților în ambele subloturi. Conform cerințelor OMS, efectuarea calitativă a spermogramei, necesită ca pacientul să respecte o perioadă de abținere cu o durată de 3-7 zile înaintea prelevării. Astfel, durata de abținere în sublotul 1 de studiu a constituit  $4,5 \pm 1,3$  zile, (ÎÎ 95%: 4,1 – 5,0; mediana 5,0), iar în sublotul 2 de referință –  $4,9 \pm 1,4$  zile, (ÎÎ 95%: 4,6 – 5,3; mediana 5,0), ( $F=1,96$ ;  $p=0,164$ ) (Tabelul 16).

Tabelul 16. Parametrii spermogramei la bărbații cu azoospermie repartizate pe loturi de cercetare

Parametrii spermogramei		Sublot 1 n=35	Sublot 2 n=61	Total n=96
<i>F=1,96;</i> <i>p = 0,164</i>	Abținerea (zile)	$4,5 \pm 1,3$	$4,9 \pm 1,4$	$4,8 \pm 1,4$
	ÎÎ 95%	4,1 – 5,0	4,6 – 5,3	4,5 – 5,0
	Mediana	5,0	5,0	5,0
	Percentila 25 – 75	3,0 – 5,0	4,0 – 6,0	4,0 – 6,0
	Minim – Maxim	2,0 – 7,0	3,0 – 7,0	2,0 – 7,0
<i>F=5,13;</i> <i>p = 0,026</i>	Volumul (ml)	$2,3 \pm 0,8$	$2,9 \pm 1,3$	$2,7 \pm 1,2$
	ÎÎ 95%	2,0 – 2,6	2,5 – 3,2	2,4 – 2,9
	Mediana	2,4	2,9	2,6
	Percentila 25 – 75	1,5 – 2,8	2,0 – 3,5	2,0 – 3,3
	Minim – Maxim	0,3 – 3,8	0,3 – 8,0	0,3 – 8,0
<i>F=0,75;</i> <i>p = 0,676</i>	Timp de lichefiere (min)	$37,4 \pm 8,0$	$38,3 \pm 10,4$	$38,0 \pm 9,5$
	ÎÎ 95%	34,7 – 40,2	35,6 – 40,9	36,0 – 39,9
	Mediana	40,0	40,0	40,0
	Percentila 25 – 75	30,0 – 45,0	35,0 – 45,0	32,5 – 45,0
	Minim – Maxim	20,0 – 60,0	10,0 – 60,0	10,0 – 60,0
<i>F=6,29;</i> <i>p = 0,014</i>	pH	$7,5 \pm 0,4$	$7,7 \pm 0,5$	$7,6 \pm 0,5$
	ÎÎ 95%	7,3 – 7,6	7,6 – 7,8	7,5 – 7,7
	Mediana	7,5	7,8	7,7
	Percentila 25 – 75	7,1 – 7,8	7,6 – 8,0	7,4 – 7,9
	Minim – Maxim	6,7 – 8,2	5,5 – 9,0	5,5 – 9,0
<i>F=0,26;</i> <i>p = 0,606</i>	Leucocite (mln/ml)	$0,7 \pm 0,9$	$0,8 \pm 0,9$	$0,8 \pm 0,9$
	ÎÎ 95%	0,4 – 1,0	0,6 – 1,1	0,6 – 1,0
	Mediana	0,6	0,7	0,6
	Percentila 25 – 75	0,1 – 1,0	0,1 – 1,0	0,1 – 1,0
	Minim – Maxim	0 – 5,0	0 – 4,9	0 – 5,0



De menționat faptul că, timpul de lichefiere a materialului seminal nu a diferențiat esențial între subploturi, fiind în subplotul 1 de studiu –  $37,4 \pm 8,0$  min, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 34,7 – 40,2; mediana 40) și în subplotul 2 de referință –  $38,3 \pm 10,4$  min, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 35,6 – 40,9; mediana 40), respectiv, nu se observă diferențe statistice semnificative între subploturi ( $F=0,75$ ;  $p=0,676$ ) (Tabelul 16, Figura 13).

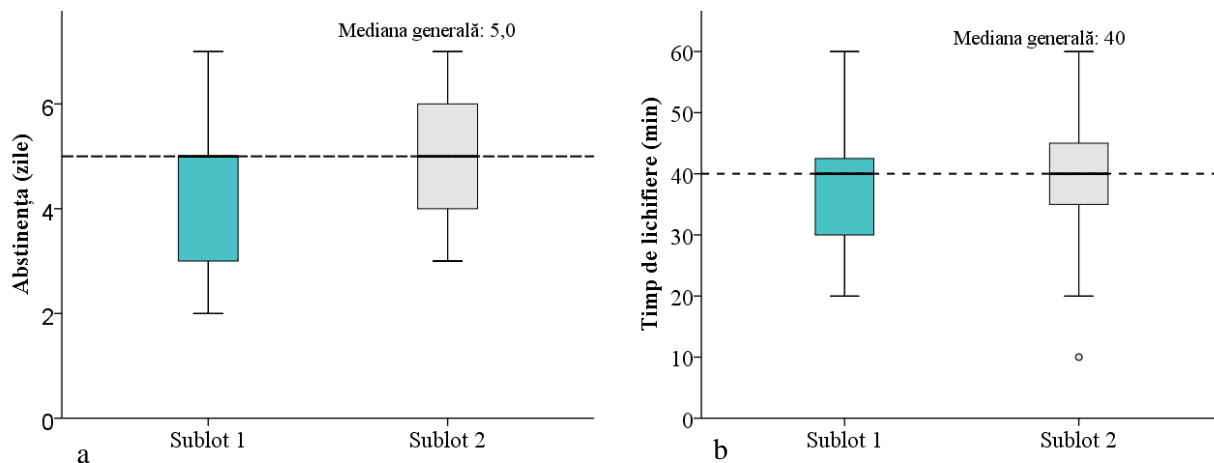


Figura 13. Analiza box plot a duratei de abinență (a) și timpul de lichefiere (b) pe subploturi cercetate

Volumul spermogramei la pacienții din subplotul de studiu 1 s-a dovedit a fi statistic, semnificativ, mai mic decât la cei din subplotul 2 de referință ( $F=5,13$ ;  $p=0,026$ ). Astfel, în subplotul 1 de studiu volumul a fost de  $2,3 \pm 0,8$  ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 2,0 – 2,6; mediana 2,4), pe când în subplotul 2 de studiu –  $2,9 \pm 1,3$  ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 2,5 – 3,2; mediana 2,9) (Tabelul 16, Figura 14).

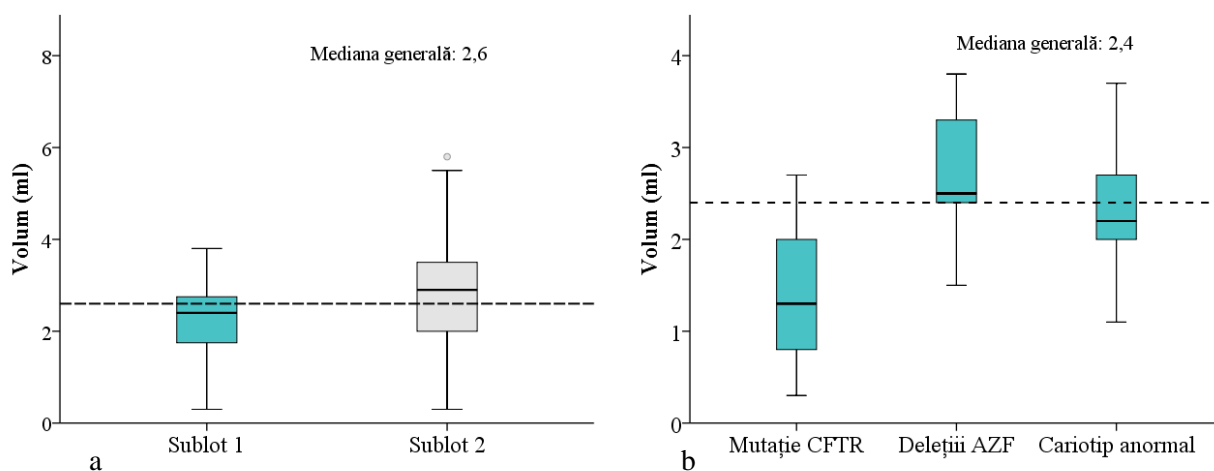


Figura 14. Analiza box plot a datelor volumului (ml) repartizat pe subplotul 1 de studiu (a, b) și subplotul 2 de studiu (a)

Valoarea pH a spermei în ambele subploturi este bazică (alcalină), având valoarea  $7,5 \pm 0,4$ , ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 7,3 – 7,6; mediana 7,5) în subplotul 1 de studiu și  $7,7 \pm 0,5$ , ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 7,6 – 7,8; mediana 7,8) în subplotul 2 de studiu, prezentând diferență statistic semnificativă între subploturi ( $F=6,29$ ;  $p=0,014$ ) (Tabelul 16, Figura 15).

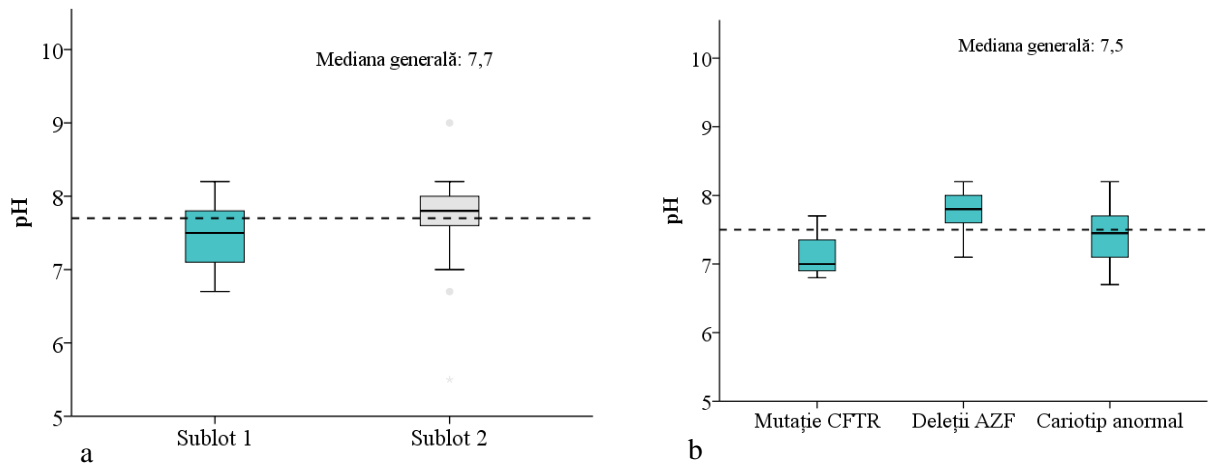


Figura 15. Analiza box plot a valorilor pH repartizat pe subplotul 1 de studiu (a, b) și subplotul 2 de studiu (a)

Numărul de leucocite în ejaculat nu depășește norma de 1 mln/ml, constituind în subplotul 1 de studiu  $0,7 \pm 0,9$  mln/ml, (ÎÎ 95%: 0,4 – 1,0; mediana 0,6) și în subplotul 2 de studiu  $0,8 \pm 0,9$  mln/ml, (ÎÎ 95%: 0,4 – 1,1; mediana 0,7) fără diferență statistic semnificativă între subploturi ( $F=0,26$ ;  $p=0,606$ ) (Tabelul 16, Figura 16).

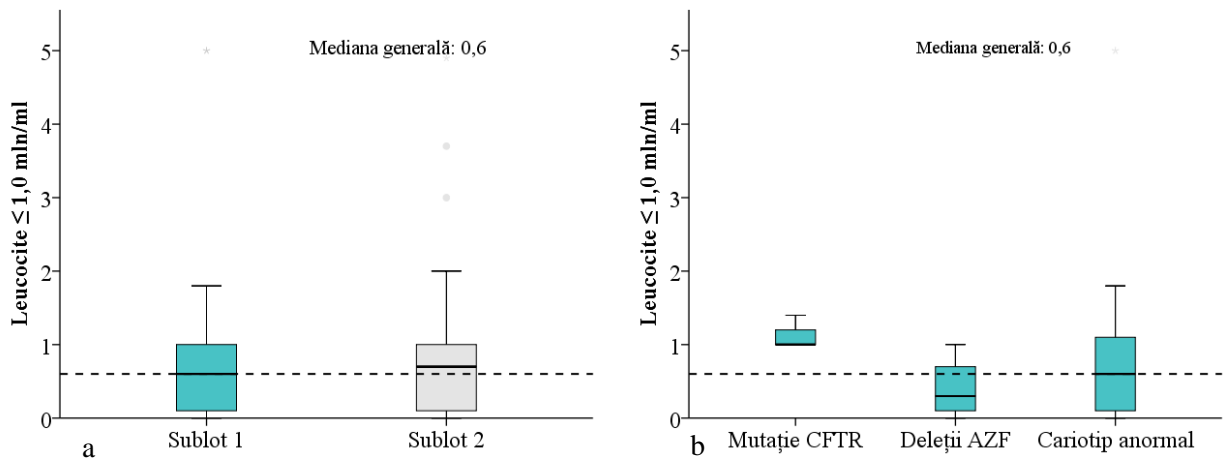


Figura 16. Analiza box plot a valorilor concentrației leucocitelor (mln/ml) repartizate pe subplotul 1 de studiu (a, b) și subplotul 2 de studiu (a)

Durata de abținere la pacienții cu mutații în gena CFTR a constituit  $4,0 \pm 1,7$  zile, (ÎÎ 95%: 3 – 8,3; mediana 3,0), la pacienții cu Microdeleții Y –  $4,9 \pm 1,4$  zile, (ÎÎ 95%: 3,9 – 5,9; mediana 5,0) și cariotip anormal  $4,4 \pm 1,2$  zile, (ÎÎ 95%: 3,9 – 5,0; mediana 5,0), ( $F=0,745$ ;  $p=0,483$ ).

Volumul mediu de  $1,4 \pm 1,2$  ml, (ÎÎ 95%: 0 – 4,4; mediana 1,3) la pacienții cu mutații în gena CFTR s-a diagnosticat mai mic, comparativ cu pacienții cu Microdeleții Y –  $2,7 \pm 0,8$  ml, (ÎÎ

95%: 2,1 – 3,3; mediana 2,5) și cariotip anormal 2,3 ±0,7 ml, (Î 95%: 2,0 – 2,6; mediana 2,2), (F=3,256; p = 0,054).

Valoarea pH a materialului seminal la pacienții cu mutații în gena CFTR s-a diagnosticat mai mică, având valoarea de 7,1 ±0,5, (Î 95%: 6,0 – 8,3; mediana 7,0), comparativ cu pacienții cu AZF deleții 7,7 ±0,4, (Î 95%: 7,5 – 8,0; mediana 7,8) și cariotip anormal 7,4 ±0,4, (Î 95%: 7,2 – 7,6; mediana 7,5), diferență semnificativă între grupuri (F = 3,323; p = 0,049) (Tabelul 17).

Tabelul 17. Caracteristicile materialului seminal la pacienții cu mutații genice și cromozomiale

Parametrii spermogramei		Mutație CFTR	Deleții AZF	Cariotip anormal	Total
Abstința (zile)	Media ± DS	4,0 ±1,7	4,9 ±1,4	4,4 ±1,2	4,5 ±1,3
	Î 95%	3 – 8,3	3,9 – 5,9	3,9 – 5,0	4,1 – 5,0
	Mediana	3,0	5,0	5,0	5,0
	Percentila 25 – 75	3,0 – 6,0	4,0 – 6,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0
	Minim – Maxim	3,0 – 6,0	3,0 – 7,0	2,0 – 7,0	2,0 – 7,0
Volumul (ml)	Media ± DS	1,4 ±1,2	2,7 ±0,8	2,3 ±0,7	2,3 ±0,8
	Î 95%	0 – 4,4	2,1 – 3,3	2,0 – 2,6	2,0 – 2,6
	Mediana	1,3	2,5	2,2	2,4
	Percentila 25 – 75	0,3 – 2,7	2,4 – 3,3	2,0 – 2,7	1,5 – 2,8
	Minim – Maxim	0,3 – 2,7	1,5 – 3,8	1,1 – 3,7	0,3 – 3,8
Timp de lichefiere (min)	Media ± DS	40,0 ±5,0	38,0 ±7,1	36,8 ±8,8	37,4 ±8,0
	Î 95%	27,6 – 52,4	32,9 – 43,1	32,9 – 40,7	34,7 – 40,2
	Mediana	40,0	40,0	35,0	40,0
	Percentila 25 – 75	35,0 – 45,0	30,0 – 45,0	30,0 – 40,0	30,0 – 45,0
	Minim – Maxim	35,0 – 45,0	30,0 – 45,0	20,0 – 60,0	20,0 – 60,0
pH	Media ± DS	7,1 ±0,5	7,7 ±0,4	7,4 ±0,4	7,5 ±0,4
	Î 95%	6,0 – 8,3	7,5 – 8,0	7,2 – 7,6	7,3 – 7,6
	Mediana	7,0	7,8	7,5	7,5
	Percentila 25 – 75	6,8 – 7,7	7,6 – 8,0	7,1 – 7,7	7,1 – 7,8
	Minim – Maxim	6,8 – 7,7	7,1 – 8,2	6,7 – 8,2	6,7 – 8,2
Leucocite (mln/ml)	Media ± DS	1,1 ±0,2	0,4 ±0,4	0,8 ±1,1	0,7 ±0,9
	Î 95%	0,6 – 1,7	0,1 – 0,7	0,3 – 1,3	0,4 – 1,0
	Mediana	1,0	0,3	0,6	0,6
	Percentila 25 – 75	1,0 – 1,4	0,1 – 0,7	0,1 – 1,1	0,1 – 1,0
	Minim – Maxim	1,0 – 1,4	0 – 1,0	0 – 5,0	0 – 5,0

Au fost analizați parametrii spermogramei la pacienții cu azoospermie din ambele subloturi la valorile de referință OMS 2010. Volumul și pH-ul spermei sunt importante pentru stabilirea diagnosticului diferențial al cauzei azoospermiei. La pacienții azoospermici cu probe de volum redus, acide, diagnosticul diferențial este CBAVD sau obstrucția completă a canalului ejaculator bilateral (EDO). Volumul micșorat asociat cu pH-ul acid indică lipsa contribuției din partea

veziculelor seminale. Ejaculatele azoospermice cu volum normal și pH alcalin indică vezicule seminale funcționale și conducte ejaculatoare patentate [130]. Absența bilaterală a vaselor deferente (CBAVD) este asociată cu mutația genei CFTR. Absența vaselor deferente este asimptomatică din punct de vedere clinic și, astfel, toți pacienții cu azoospermie trebuie să fie foarte atent investigați pentru mutațiile genei CFTR, în special, bărbații cu volumul spermei < 1,5 ml și pH < 7,2 (Tabelul 18, Tabelul 19).

**Tabelul 18. Parametrii spermogramei (volum, pH, leucocite) repartizate pe loturile de cercetare raportate la valorile de referință OMS 2010**

Parametrii spermogramei	Sublot 1		Sublot 2		Total		
	n=35	%	n=61	%	n=96	%	
Volum	< 1,5 ml	4	11,4	7	11,5	11	11,5
	≥ 1,5 ml	31	88,6	54	88,5	85	88,5
pH	< 7,2	11	31,4	7	11,5	18	18,8
	≥ 7,2	24	68,6	54	88,5	78	81,3
Leucocite	≤ 1 mln/ml	7	20,0	15	24,6	22	22,9
	≥ 1 mln/ml	28	80,0	46	75,4	74	77,1

**Tabelul 19. Parametrii spermogramei (volum, pH, leucocite) raportate la valorile de referință OMS 2010, la pacienții cu mutații genice**

Parametrii spermogramei	Mutație CFTR		Deleții AZF		Cariotip anormal		Total			
	n=3	%	n=10	%	n=22	%	n=35	%		
Volum	< 1,5 ml	2	66,7				2	9,1	4	11,4
	≥ 1,5 ml	1	33,3	10	100	20	90,9	31	88,6	
pH	< 7,2	2	66,7	2	20,0	7	31,8	11	31,4	
	≥ 7,2	1	33,3	8	80,0	15	68,2	24	68,6	
Leucocite	≤ 1 mln/ml	1	33,3			6	27,3	7	20,0	
	≥ 1 mln/ml	2	66,7	10	100	16	72,7	28	80,0	

Pentru a identifica factori posibili ce ar fi putut afecta statutul fertilității, au fost analizate datele din anamneza pacienților (Tabelul 20, Tabelul 21, Tabelul 22). S-a constatat că, aproximativ, 2/3 dintre participanții la cercetare nu au suportat în copilărie boli, care presupun afectarea fertilității: în sublotul 1 de studiu – 22 (62,9%) pacienți și în sublotul 2 de studiu – 39 (63,9%) pacienți, fără diferență statistic semnificativă între loturi ( $\chi^2=0,11$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,916$ ). Oreion în sublotul 1 de studiu au prezentat în 61,5% (n=8) și sublotul 2 de 50,0 (n=11). Orhita virală au prezentat în 22,7% (n=5) în sublotul 1 și 15,4% (n=2) sublotul 2 (Tabelul 20).

Unii bărbați investigați au menționat prezența traumatismelor genitale în anamneză, care, la fel, ar putea influența fertilitatea: în sublotul 1 de studiu 11,4% (n=4) și în sublotul 2 de referință

31,7% (n=19), fără diferență statistic semnificativă între loturi ( $\chi^2=4,96$ ; gl=1; p=0,026) (Tabelul 22).

Tabelul 20. Asocierea bolilor din copilărie ce presupune afectarea fertilității la bărbații cu azoospermie

Boli în copilărie	Sublot 1		Sublot 2		Total		$\chi^2$ ; gl; p
	n	%	n	%	n	%	
a prezentat	13	37,1	22	36,1	35	36,5	$\chi^2=0,11$ ; gl=1; p=0,916
nu a prezentat	22	62,9	39	63,9	61	63,5	
Total	35	100	61	100	96	100	
Oreion	8	61,5	11	50,0	19	54,3	$\chi^2=0,47$ ; gl=2; p=0,788
Orhita Virală	2	15,4	5	22,7	7	20,0	
Criptoorhidie	3	23,1	6	27,3	9	25,7	
Total	13	100	22	100	35	100	

Tabelul 21. Asocierea bolilor din copilărie la bărbații cu azoospermie cu patologii genetice

Boli în copilărie	Rezultate genetice (Sublot 1)								$\chi^2$ ; gl; p
	Mutație CFTR		Deleții AZF		Cariotip anormal		Total		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
a prezentat			5	50,0	8	36,4	13	37,1	$\chi^2=2,48$ ; gl=2; p=0,288
nu a prezentat	3	100	5	50,0	14	63,6	22	62,9	
Total	3	100	10	100	22	100	35	100	
Oreion			4	80,0	4	50,0	8	61,5	$\chi^2=1,73$ ; gl=2; p=0,420
Orhita Virală					2	25,0	2	15,4	
Criptoorhidie			1	20,0	2	25,0	3	23,1	
Total			5	100	8	100	13	100	

Intervenții chirurgicale în regiunea pelviană menționează în 14,3% (n=5) din participanți din sublotul 1 de studiu și 21,3% (n=13) din sublotul 2 ce nu determină diferență statistic semnificativă între ele ( $\chi^2=0,721$ ; gl=1; p=0,396). Infecțiile genitale precum epididimita sau uretrita au fost prezente la 17,1% (n=6) din participanți din sublotul 1 de studiu și 24,6% (n=15) din sublotul 2 de studiu fără diferență statistic semnificativă între acestea ( $\chi^2=0,722$ ; gl=1; p=0,396). Expuneri la gonadotoxice, cum ar fi radioterapia, chimioterapia, febră recentă sau medicamente curente, au avut 25,7% (n=9) din pacienți din sublotul 1 de studiu și 32,8% (n=20) din sublotul 2 de referință, diferență statistic semnificativă între subloturi nu se atestă ( $\chi^2=0,528$ ; gl=1; p=0,468). Suferă de tabagism, aproximativ, aceeași proporție de participanți din ambele subloturi: în sublotul 1 de studiu – 42,9% (n=15) de pacienți și în sublotul 2 de studiu – 37,7% (n=23) fără diferență statistic semnificativă între ele ( $\chi^2=0,247$ ; gl=1; p=0,619). Luând în considerare influența unui posibil istoric familial de anomalii congenitale, retard mental, tulburări de reproducere sau fibroza chistică asupra fertilității, participanții au fost interogați și la acest

capitol. Au fost primite următoarele răspunsuri afirmative: în subplotul 1 de studiu în 25,7% (n=9) cazuri și în subplotul 2 de studiu – 14,8% (n=9) cazuri (Tabelul 22).

Tabelul 22. Asocierea unor factori de risc ce pot afecta fertilitatea în loturile cercetate

Factori de risc din istoricul personal	Sublot 1		Sublot 2		Total		
	n = 35	%	n =61	%	n=96	%	
Traumatisme genitale	nu	31	88,6	41	68,3	72	75,8
	da	4	11,4	19	31,7	23	24,2
Intervenții chirurgicale în regiunea pelvină	nu	30	85,7	48	78,7	78	81,3
	da	5	14,3	13	21,3	18	18,8
Infecții genitale	nu	29	82,9	46	75,4	75	78,1
	da	6	17,1	15	24,6	21	21,9
Expuneri la gonadotoxice	nu	26	74,3	41	67,2	67	69,8
	da	9	25,7	20	32,8	29	30,2
Este consumator de țigări	nu	20	57,1	38	62,3	58	60,4
	da	15	42,9	23	37,7	38	39,6
Istoric familial anomalii congenitale	nu	26	74,3	52	85,2	78	81,3
	da	9	25,7	9	14,8	18	18,8

Analiza manifestărilor fenotipice din sfera urogenitală a pacienților a permis identificarea unor semne clinice sugestive pentru anumite entități nozologice. Deși în ambele subploturi câte jumătate de participanți au avut dimensiunea și consistența testiculelor normală, totuși, prezența modificărilor a determinat diferență statistic semnificativă între subploturi ( $\chi^2=12,1$ ;  $gl=3$ ;  $p=0,007$ ). Testicule micșorate în volum s-au înregistrat în 8,6% (n=3) din pacienți din subplotul 1 de studiu și 29,5% (n=18) din subplotul 2 de studiu (Tabelul 23).

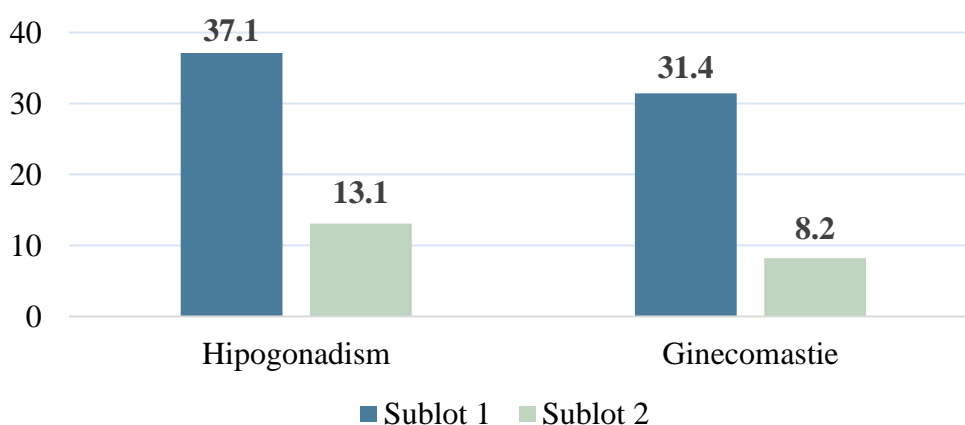


Figura 17. Ponderea hipogonadismului și ginecomastiei la ambele subploturi de cercetare

Hipogonadismul fiind mai frecvent în 37,1% (n=13) la subplotul 1 de studiu comparativ cu subplotul 2 de referință 13,1% (n=8) (Tabelul 23, Figura 17). Aceasta se poate explica, prin faptul că în subplotul 1 - dintre pacienții cu patologii genetice cel mai frecvent hipogonadismul s-a

înregistrat la pacienții cu cariotip anormal în 50,0% (n=11), urmată la pacienții cu deleții în regiunea AZF 20,0% (n=2) (Tabelul 24).

Prezența ginecomastiei este, statistic, semnificativ mai frecventă în sublotul 1 de studiu de 31,4% (n=11) și în sublotul 2 de 8,2% (n=5), ( $\chi^2=8,642$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,003$ ) (Tabelul 23, Figura 17). În sublotul 1 de studiu ginecomastia este mai frecventă la pacienții cu cariotip anormal în 45,5% (n=10), urmată de 10,0% (n=1) la pacienții cu microdeleții ale cromozomului Y, la pacienții cu mutații în gena CFTR nu s-a înregistrat ( $\chi^2=5,5$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,063$ ) (Tabelul 24).

Tabelul 23. **Repartizarea manifestărilor fenotipice în lotul de cercetare**

Manifestările clinice		Sublot 1		Sublot 2		Total	
		n = 35	%	n = 61	%	n = 96	%
Dimensiunea și consistența testiculelor $\chi^2=12,1$ ; $gl=3$ ; $p=0,007$	normală	19	54,3	32	52,5	51	53,1
	micșorate în volum	3	8,6	18	29,5	21	21,9
	hipogonadism	13	37,1	8	13,1	21	21,9
	lipsa unui /chist testicular			3	4,9	3	3,1
Habitusul corporal $\chi^2=2,838$ ; $gl=2$ ; $p=0,242$	normostenică IMC 22,7 $\pm$ 2,7	15	42,9	37	60,7	52	54,2
	hiperstenică IMC 23,9 $\pm$ 4,9	15	42,9	18	29,5	33	34,4
	astenică IMC 20,3 $\pm$ 2,9	5	14,3	6	9,8	11	11,5
Ginecomastie $\chi^2=8,642$ ; $gl=1$ ; $p=0,003$	lipsa	24	68,6	56	91,8	80	83,3
	prezența	11	31,4	5	8,2	16	16,7
Canalul deferent $\chi^2=1,26$ ; $gl=1$ ; $p=0,261$	se palpează	32	91,4	59	96,7	91	94,8
	nu se palpează	3	8,6	2	3,3	5	5,2
Varicocel $\chi^2=0,86$ ; $gl=1$ ; $p=0,351$	lipsa	33	94,3	54	88,5	87	90,6
	prezența	2	5,7	7	11,5	9	9,4
Examenul clinic al prostatei $\chi^2=0,001$ ; $gl=1$ ; $p=0,977$	fără modificări	24	68,6	42	68,9	66	68,8
	prezintă modificări	11	31,4	19	31,1	30	31,3

Deși în sublotul 2 în 60,7% comparativ cu sublotul 1 de 42,9% predomină constituția normostenică, habitusul corporal nu diferă statistic semnificativ între subloturi ( $\chi^2=2,838$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,242$ ). Constituția hiperstenică este mai frecventă în sublotul 1 de studiu 42,9% (n=15); în cazul pacienților cu mutații în gena CFTR 66,7% (n=2), cu cariotip anormal 54,7% (n=12) și deleții în regiunea AZF 10% (n=1). Prezența congenitală bilaterală a canalului deferent se palpează la majoritatea pacienților din ambele subloturi de cercetare: în sublotul 1 de studiu la 91,4% (n=32) pacienți și în sublotul 2 la 96,7% (n=59) pacienți, ce nu cauzează diferență statistic semnificativă între acestea ( $\chi^2=1,262$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,261$ ). În schimb, dacă analizăm la pacienții cu patologii genetice canalul deferent se palpează la toți pacienții cu cariotip anormal și deleții în regiunea AZF și nu se palpează la toți pacienții cu mutații în gena CFTR, ( $\chi^2=35,0$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,000$ ). Din numărul total dintre participanții fiecărui sublot de studiu, examenul clinic al prostatei nu prezintă modificări: în

sublotul 1 de studiu – 68,6% (n=24) cazuri și în sublotul 2 de studiu– 68,9% (n=42) cazuri, fără atestarea unei diferențe statistice semnificative între subloturi ( $\chi^2=0,001$ ;  $gl=1$ ;  $p=0,977$ ). În schimb, la pacienții cu patologii genetice se atestă diferențe statistice semnificative ( $\chi^2=6,59$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,037$ ), cele mai multe modificări au fost semnalate la participanții cu cariotip anormal în 45,5% (n=10) și 33,3% (n=1) la pacienții cu mutații CFTR, la pacienții cu microdeleții Y nu s-au diagnosticat (Tabelul 24).

Tabelul 24. **Analiza manifestărilor fenotipice la pacienții cu patologii genetice**

Manifestări clinice		Mutație CFTR		Deleții AZF		Cariotip anormal		Total	
		n=3	%	n=10	%	n=22	%	n=35	%
Dimensiunea și consistența testiculelor	normală	3	100	7	70,0	9	40,9	19	54,3
	micșorate în volum			1	10,0	2	9,1	3	8,6
	hipogonadism			2	20,0	11	50,0	13	37,1
$\chi^2=5,5$ ; $gl=4$ ; $p=0,239$									
Habitusul corporal	normostenică IMC 22,2 ±3,1	1	33,3	6	60,0	8	36,4	15	42,9
	hiperstenică IMC 23,1 ±3,7	2	66,7	1	10,0	12	55,5	15	42,9
	astenică IMC 20,9			3	30,0	2	9,1	5	14,3
$\chi^2=7,15$ ; $gl=4$ ; $p=0,124$									
Prezența ginecomastiei	lipsa	3	100	9	90,0	12	54,5	24	68,6
	prezența			1	10,0	10	45,5	11	31,4
$\chi^2=5,5$ ; $gl=2$ ; $p=0,063$									
Canalul deferent	se palpează			10	100	22	100	32	91,4
	nu se palpează	3	100					3	8,6
$\chi^2=35,0$ ; $gl=2$ ; $p=0,000$									
Varicocel	lipsa	3	100	10	100	20	90,9	33	94,3
	prezența					2	9,1	2	5,7
$\chi^2=1,25$ ; $gl=2$ ; $p=0,534$									
Examenul clinic al prostatei	fără modificari	2	66,7	10	100	12	54,5	24	68,6
	prezintă modificari	1	33,3			10	45,5	11	31,4
$\chi^2=6,59$ ; $gl=2$ ; $p=0,037$									

Valorile markerilor endocrini (FSH, LH, prolactina și testosteron) ai fertilității au fost determinate și analizate la pacienții cu azoospermie. În urma analizei rezultatelor valorilor markerilor endocrini ale (n=96), pacienți cu azoospermie, cu valori normale (2-10 mIU/ml) ale FSH au fost identificați în 60,4% (n=58), mărite (>10 mIU/ml) în 29,2% (n=28), micșorate (<2 mIU/ml) în 10,4% (n=10). Valori normale ale hormonului LH (3-12 mIU/ml) au fost diagnosticate în 60,4% (n=58), mărite (>12 mIU/ml) în 27,1% (n=26), micșorate (<3 mIU/ml) în 12,5% (n=12). Prolactina a fost analizată la (n=85) pacienți cu azoospermie, cu valorile prolactinei în limitele normale (1,8-17 ng/ml) au fost identificați în 61,2% (n=52) și valori ridicate (>17 ng/ml) în 38,8% (n=33), cu valori micșorate (<1,8 ng/ml) nu a fost identificat nici un pacient. Testosteronul a fost evaluat la (n=87) pacienți cu azoospermie, valori normale ale hormonului testosteron (2-6,9 ng/ml) au fost înregistrate în 83,9% (n=73), valori micșorate (<2 ng/ml) în 16,1% (n=14), valori ridicate nu au fost diagnosticate la nici un pacient (Tabelul 25).



Tabelul 25. Valorile marcherilor endocrini în lotul de cercetare

Marcherii endocrini		Sublot 1		Sublot 2		Total	
		n=35	%	n=61	%	n =96	%
FSH (mIU/ml)	Micșorat <2	4	11,4	6	9,8	10	10,4
	Norma 2-10	19	54,3	39	63,9	58	60,4
	Mărit >10	12	34,3	16	26,2	28	29,2
	Total	35	100	61	100	96	100
$\chi^2=0,89;$ $gl=2; p=0,640$							
LH (mIU/ml)	Micșorat <3	6	17,1	6	9,8	12	12,5
	Norma 3-12	20	57,1	38	62,3	58	60,4
	Mărit >12	9	25,7	17	27,9	26	27,1
	Total	35	100	61	100	96	100
$\chi^2=1,65;$ $gl=2; p=0,436$							
Prolactina (ng/ml)	Micșorat <1,8	0	0	0	0	0	0
	Norma 1,8-17	21	61,8	31	60,8	52	61,2
	Mărit >17	13	38,2	20	39,2	33	38,8
	Total	34	100	51	100	85	100
$\chi^2=0,1; gl=1;$ $p=0,928$							
Testosteron (ng/ml)	Micșorat <2	2	5,7	12	23,1	14	16,1
	Norma 2- 6,9	33	94,3	40	76,9	73	83,9
	Mărit > 6,9	0	0	0	0	0	0
	Total	35	100	52	100	87	100
$\chi^2=4,67; gl=1;$ $p=0,031$							

Valoarea medie a nivelului hormonului FSH în sublotul 1 de studiu a constituit  $9,9 \pm 9,1$  mIU/ml, (Î 95%: 6,8-13,0; mediana 7,3) cu valoarea minimă de 1,1 mIU/ml și valoarea maximă de 38,4 mIU/ml, iar în sublotul 2 nivelul valorii medii a fost  $8,1 \pm 7,8$  mIU/ml, (Î 95%: 6,1-10,0; mediana 4,7) cu valoare minimă de 0,9 mIU/ml și valoarea maximă de 40,7 mIU/ml, ( $F=1,16$ ;  $p=0,283$ ).

Nivelul hormonului LH a înregistrat valoare medie de  $10,1 \pm 8,1$  mIU/ml, (Î 95%: 7,3-12,8; mediana 7,5) în sublotul 1 de studiu cu valoarea minimă de 1,1 mIU/ml și valoarea maximă de 28,6 mIU/ml, iar în sublotul 2 de  $7,6 \pm 5,6$  mIU/ml, (Î 95%: 6,1-9,2; mediana 6) cu valoare minimă de 1,0 mIU/ml și valoarea maximă de 27,7 mIU/ml, ( $F=2,74$ ;  $p=0,101$ ) (Tabelul 26).

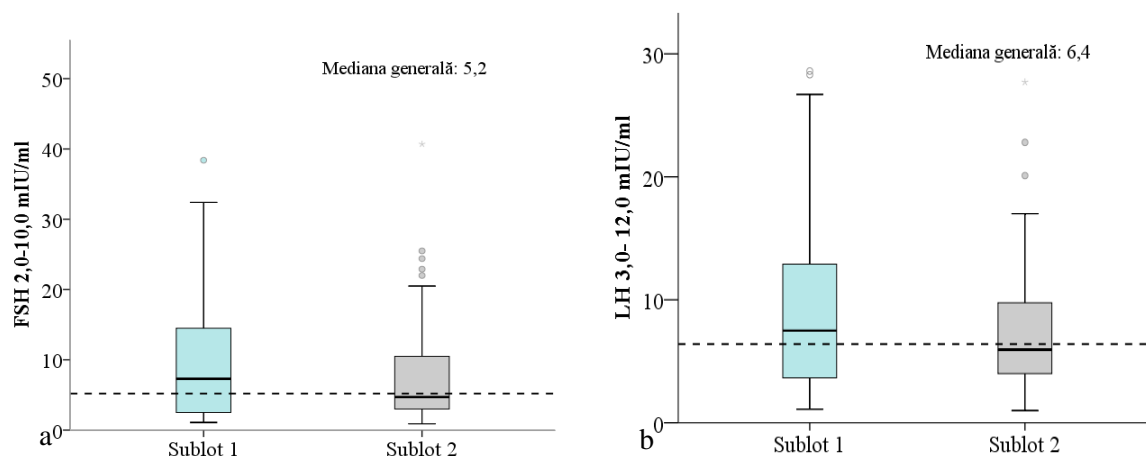


Figura 18. Valorile medii și medianelor a: FSH, b: LH la pacienții din ambele loturi de cercetare

Tabelul 26. Caracteristicile markerilor endocrini în loturile de cercetare

Markerii endocrini		Sublot 1	Sublot 2	Total
		n=35	n=61	n=96
FSH 2,0 – 10,0 mIU/ml  <i>F=1,16;</i> <i>p = 0,283</i>	Media ± DS	9,9 ±9,1	8,0 ±7,8	8,7 ±8,3
	ÎÎ 95%	6,8 – 13,0	6,0 – 10,0	7,0 – 10,4
	Mediana	7,3	4,7	5,2
	Percentila 25 – 75	2,5 – 15,1	3,0 – 10,5	3,0 – 11,6
	Minim – Maxim	1,1 – 38,4	0,9 – 40,7	0,9 – 40,7
LH 3,0 – 12,0 mIU/ml  <i>F=2,74;</i> <i>p = 0,101</i>	Media ± DS	10,1 ±8,1	7,6 ±5,6	8,6 ±6,7
	ÎÎ 95%	7,3 – 12,8	6,1 – 9,2	7,2 – 10,0
	Mediana	7,5	6,0	6,4
	Percentila 25 – 75	3,5 – 13,8	4,0 – 9,8	4,0 – 11,2
	Minim – Maxim	1,1 – 28,6	1,0 – 27,7	1,0 – 28,6
Prolactina 1,8 – 17,0 ng/ml  <i>F=4,423;</i> <i>p = 0,038</i>	Media ± DS	14,6 ±6,3	19,5 ±12,4	17,5 ±10,6
	ÎÎ 95%	12,4 – 16,8	16,0 – 23,0	15,3 – 19,8
	Mediana	12,9	16,0	15,9
	Percentila 25 – 75	11,0 – 19,5	11,4 – 20,5	11,3 – 19,7
	Minim – Maxim	4,3 – 31,0	5,6 – 65,0	4,3 – 65,0
Testosteron 2,0 – 6,9 ng/ml  <i>F=6,386;</i> <i>p = 0,013</i>	Media ± DS	3,5 ±1,2	2,9 ±1,3	3,1 ±1,3
	ÎÎ 95%	3,1 – 4,0	2,5 – 3,2	2,9 – 3,4
	Mediana	3,2	3,0	3,0
	Percentila 25 – 75	2,7 – 4,6	2,0 – 3,5	2,4 – 3,7
	Minim – Maxim	1,2 – 5,6	0,7 – 6,2	0,7 – 6,2
Testosteron liber  <i>F=0,21;</i> <i>p = 0,644</i>	Media ± DS	11,7 ±9,2	13,3 ±8,4	12,7 ±8,6
	ÎÎ 95%	5,1 – 18,3	8,9 – 17,8	9,2 – 16,1
	Mediana	8,4	13,8	13,5
	Percentila 25 – 75	2,8 – 18,5	7,0 – 16,4	4,1 – 17,5
	Minim – Maxim	2,8 – 28,8	1,7 – 35,5	1,7 – 35,5

Nivelul prolactinei a avut în sublotul 1 de studiu valoarea medie de 14,6 ±6,3 ng/ml, (ÎÎ 95%: 13,1-17,4; mediana 12,9) cu cel mai mic nivel de 4,3 ng/ml și cel mai mare de 31,0 ng/ml, iar în sublotul 2 de referință– 19,5 ±12,4 ng/ml, (ÎÎ 95%: 16,0-23,0; mediana 16,0) cu cel mai mic nivel de 5,6 ng/ml și cel mai mare de 65,0 ng/ml. Diferența dintre loturi este, statistic, semnificativă (F=4,423; p=0,038).

De asemenea, se observă o diferență, statistic, semnificativă între loturi al valorilor medii ale nivelului de testosteron (F=6,386; p=0,013). Astfel, în sublotul 1 de studiu valoarea medie a nivelului de testosteron este egală cu 3,5±1,2 ng/ml, (ÎÎ 95%: 3,1-3,9; mediana 3,2), oscilând între 1,2 ng/ml și 5,6 ng/ml, iar în sublotul 2 de studiu – 2,9 ±1,3 ng/ml; (ÎÎ 95%: 2,4-3,3), oscilând între 0,7 ng/ml și 6,2 ng/ml (Tabelul 26, Figura 19).

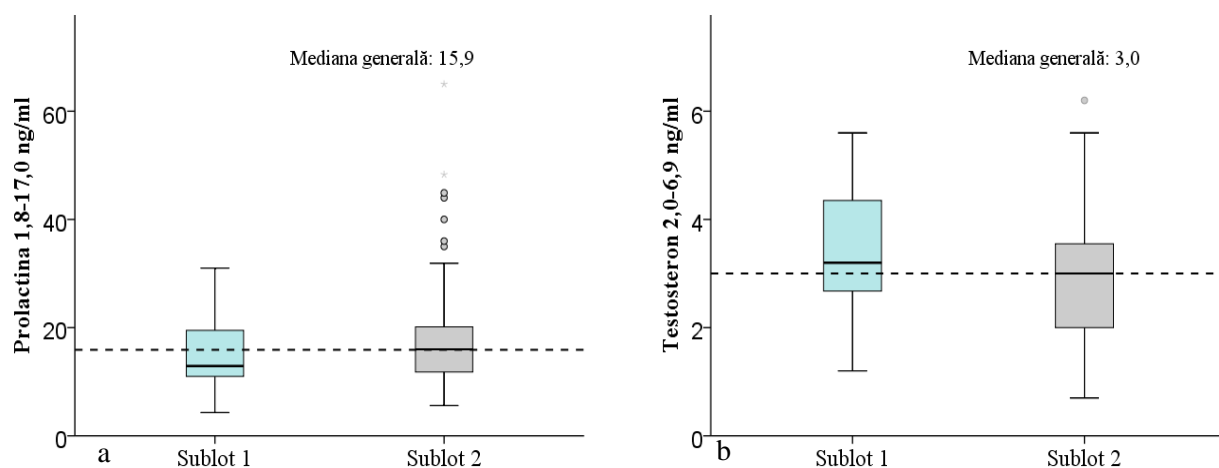


Figura 19. Valorile medii și medianele a: Prolactina, b: Testosteron, la pacienții din ambele loturi de cercetare

Valorile parametrilor markerilor endocrini în subploturile de cercetare prezintă diferențe semnificative pentru hormonul testosteron, prolactină, dar nu prezintă diferențe semnificative pentru FSH, LH și testosteronul liber. Pentru a evalua detaliat semnificația clinică a valorilor markerilor endocrini și pentru a evidenția schimbările hormonale, s-au analizat valorile endocrine în dependență de situația clinică și cauza genetică determinată în subplotul 1 cu variații genetice.

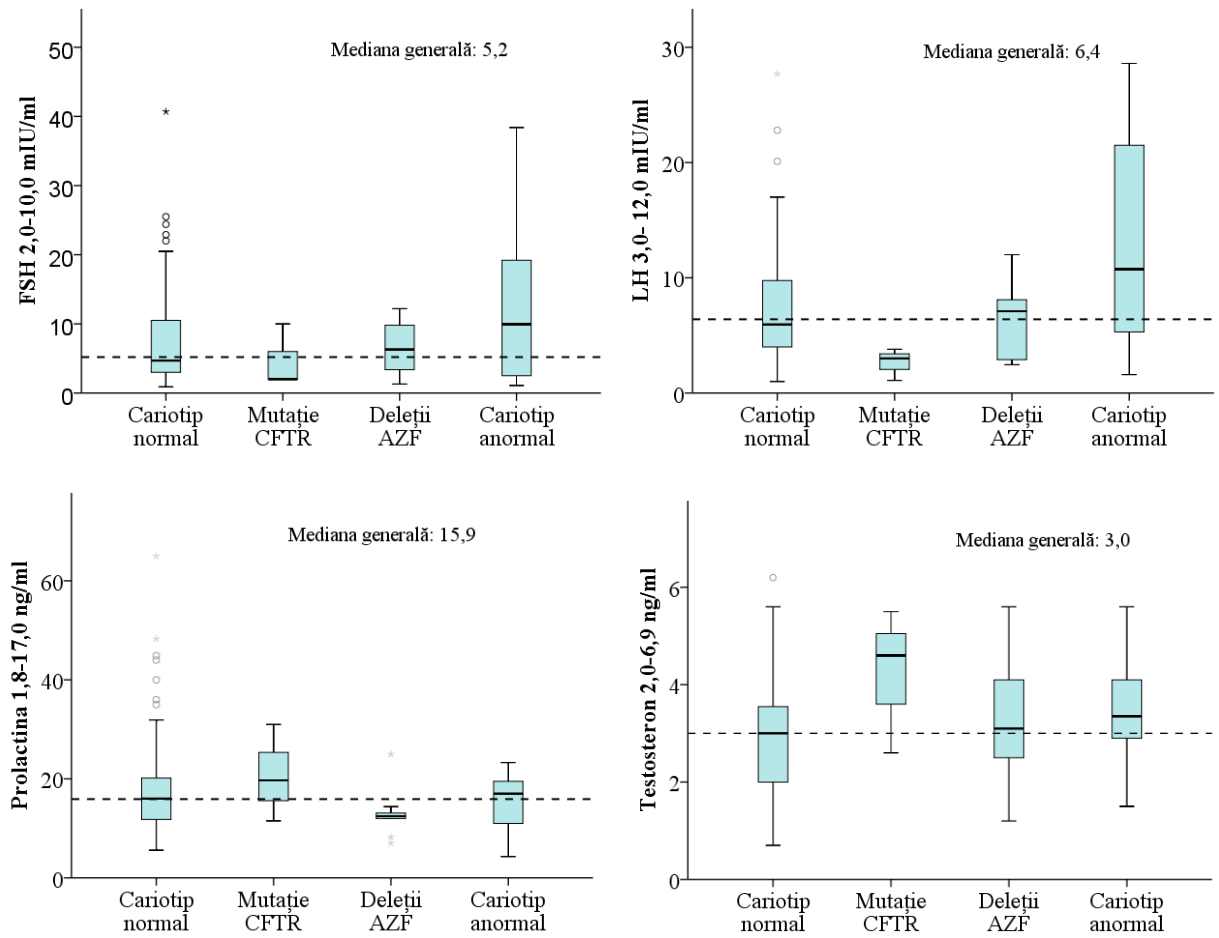
Tabelul 27. Valorile markerilor endocrini la pacienții azoospermici cu variații genetice

Marcherii endocrini		Mutație CFTR		Deleții AZF		Cariotip anormal		Total	
		n=3	%	n=10	%	n=22	%	n=35	%
FSH (mIU/ml)	Micșorat <2			1	10,0	3	13,6	4	11,4
	Norma 2-10	3	100	8	80,0*	8	36,4	19	54,3
	Mărit >10			1	10,0	11	50,0*	12	34,3
	Total	3	100	10	100	22	100	35	100
LH (mIU/ml)	Micșorat <3	1	33,3	3	30,0	2	9,1	6	17,1
	Norma 3-12	2	66,7	7	70,0	11	50,0	20	57,1
	Mărit >12					9	40,9	9	25,7
	Total	3	100	10	100	22	100	35	100
Prolactina (ng/ml)	Micșorat <1,8	0	0	0	0	0	0	0	0
	Norma 1,8-17	1	33,3	9	90,0	11	52,4	21	61,8
	Mărit >17	2	66,7	1	10,0	10	47,6	13	38,2
	Total	3	100	10	100	21	100	34	100
Testosteron (ng/ml)	Micșorat <2			1	10,0	1	4,5	2	5,7
	Norma 2- 6,9	3	100	9	90,0	21	95,5	33	94,3
	Mărit > 6.9	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	3	100	10	100	22	100	35	100

În urma evaluării pacienților cu patologii genetice în dependență de valorile FSH observăm că cele mai multe cazuri cu FSH normal în 100% (n=3) sunt întâlnite la pacienții cu mutații în gena CFTR și 80% (n=8) cu deleții în regiunea AZF, comparativ cu pacienții cu modificări în cariotip 36,4% (n=8). Cu FSH mărit cele mai multe cazuri 50,0% (n=11) s-au diagnosticat la pacienții cu cariotip anormal, la pacienții cu AZF deleții 10,0% (n=1) și la cei cu mutații CFTR nu s-a diagnosticat ( $\chi^2=8,46$ ;  $gl=4$ ;  $p=0,076$ ). Cele mai multe cazuri cu valorile în limitele normale ale hormonului LH s-au diagnosticat la pacienții cu AZF deleții în 70,0% (n=7) și cu mutații în gena CFTR în 66,7% (n=2), la pacienții cu cariotip anormal în 50,0% (n=11). Cu valorile LH mărite s-a depistat doar la pacienții cu variații cromozomiale în 40,9% (n=9) (Tabelul 27).

Tabelul 28. Caracteristicile markerilor endocrini la pacienții azoospermici cu mutații genice

Markerii endocrini		Mutație CFTR	Deleții AZF	Cariotip anormal	Total
		n=3	n=10	n=22	n=35
FSH 2,0 – 10,0 mIU/ml  <i>F=2,087;</i> <i>p = 0,141</i>	Media ± DS	4,7 ± 4,6	6,4 ± 3,5	12,2 ± 10,5	9,9 ± 9,1
	ÎÎ 95%	0 – 16,1	3,9 – 8,9	7,6 – 16,9	6,8 – 13,0
	Mediana	2,0	6,3	10,0	7,3
	Percentila 25 – 75	2,0 – 10,0	3,4 – 9,8	2,5 – 19,2	2,5 – 15,1
	Minim – Maxim	2,0 – 10,0	1,3 – 12,2	1,1 – 38,4	1,1 – 38,4
LH 3,0 – 12,0 mIU/ml  <i>F=4,413;</i> <i>p = 0,020</i>	Media ± DS	2,6 ± 1,4	6,2 ± 3,2	12,8 ± 8,9	10,1 ± 8,1
	ÎÎ 95%	0 – 6,1	3,9 – 8,5	8,9 – 16,8	7,3 – 12,8
	Mediana	3,0	7,1	10,8	7,5
	Percentila 25 – 75	1,1 – 3,8	2,9 – 8,1	5,3 – 21,5	3,5 – 13,8
	Minim – Maxim	1,1 – 3,8	2,5 – 12,0	1,6 – 28,6	1,1 – 28,6
Prolactina 1,8 – 17,0 ng/ml  <i>F=1,857;</i> <i>p = 0,173</i>	Media ± DS	20,7 ± 9,8	12,9 ± 4,8	14,6 ± 6,2	14,6 ± 6,3
	ÎÎ 95%	0 – 45,1	9,5 – 16,4	11,7 – 17,4	12,4 – 16,8
	Mediana	19,7	12,5	17,0	12,9
	Percentila 25 – 75	11,5 – 31,0	12,0 – 13,1	11,0 – 19,5	11,0 – 19,5
	Minim – Maxim	11,5 – 31,0	7,0 – 25,0	4,3 – 23,3	4,3 – 31,0
Testosteron 2,0 – 6,9 ng/ml  <i>F=0,695;</i> <i>p = 0,506</i>	Media ± DS	4,2 ± 1,5	3,3 ± 1,4	3,6 ± 1,1	3,5 ± 1,2
	ÎÎ 95%	0,5 – 7,9	2,3 – 4,3	3,1 – 4,0	3,1 – 4,0
	Mediana	4,6	3,1	3,4	3,2
	Percentila 25 – 75	2,6 – 5,5	2,5 – 4,1	2,9 – 4,1	2,7 – 4,6
	Minim – Maxim	2,6 – 5,5	1,2 – 5,6	1,5 – 5,6	1,2 – 5,6
Testosteron liber  <i>F=1,240;</i> <i>p = 0,298</i>	Media ± DS	16,6 ± 11,3		9,6 ± 8,3	11,7 ± 9,2
	ÎÎ 95%	0 – 44,6		1,9 – 17,2	5,1 – 18,3
	Mediana	14,3		8,4	8,4
	Percentila 25 – 75	6,6 – 28,8		2,8 – 18,5	2,8 – 18,5
	Minim – Maxim	6,6 – 28,8		2,8 – 23,3	2,8 – 28,8



**Figura 20. Valorile medii și medianele pentru markerii endocrini la pacienții azoospermici cu cariotip normal și variații genice și cromozomiale**

Dintre pacienții cu patologii genetice, cea mai mare medie  $12,2 \pm 10,5$  mIU/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 7,6 – 16,9; mediana 10,0) a nivelului FSH a fost înregistrată la pacienții cu cariotip anormal, urmată la pacienții cu deleții în regiunea AZF  $6,4 \pm 3,5$  mIU/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 3,9 – 8,9; mediana 6,3) și media  $4,7 \pm 4,6$  mIU/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 0 – 16,1; mediana 2,0), cea mai joasă s-a înregistrat la pacienții cu mutații în gena CFTR. Pentru nivelul hormonului LH, la fel, media cea mai înaltă  $12,8 \pm 8,9$  mIU/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 8,9 – 16,8; mediana 10,8) este înscrisă la pacienții cu cariotip anormal, urmată de cei cu deleții AZF  $6,2 \pm 3,2$  mIU/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 3,9 – 8,5; mediana 7,1) și cu mutații CFTR  $2,6 \pm 1,4$  mIU/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 0 – 6,1; mediana 3,0). Cea mai mare valoare a mediei totale a nivelului prolactinei a fost la pacienții cu mutații ale genei CFTR de  $20,7 \pm 9,8$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 0 – 45,1; mediana 19,7), urmată de subiecții cu variații cromozomiale de  $14,6 \pm 6,2$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 11,7 – 17,4; mediana 17,0) și cu microdeleții ale cromozomului Y de  $12,9 \pm 4,8$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 9,5 – 16,4; mediana 12,5). Pentru hormonul testosteron, la fel, media cea mai mare este înregistrată la pacienții cu mutații CFTR  $4,2 \pm 1,5$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 0,5 – 7,9; mediana 4,6), la pacienții cu modificări în cariotip fiind de  $3,6 \pm 1,1$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 3,1 – 4,0; mediana 3,4) și cu deleții AZF de  $3,3 \pm 1,4$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 2,3 – 4,3; mediana 3,1) (Tabelul 28, Figura 20).

#### 4.2. Variații cromozomiale la bărbații cu azoospermie diagnosticați prin examenul citogenetic

La toți bărbații din studiu (n=96) s-a analizat cariotipul prin examenul celulelor sângelui periferic, utilizându-se tehnica de bandare G a cromozomilor. Conform examenului citogenetic, din numărul total de (n=96) bărbați infertili cu azoospermie 75% (n=72), au prezentat cariotip normal 46,XY și 25% (ÎÎ 95%: 24,1 – 25,9), (n=24) au prezentat variații de număr sau structură a cromozomilor. Clasificarea anomaliilor cromozomiale și repartizarea acestora pe grupe de vârstă nu a determinat diferențe statistice semnificative  $\chi^2=11,7$ ; gl=8; p=0,161. Pacienții cu anomalii cromozomiale numerice au fost diagnosticați în 66,7% la vârsta  $\geq 40$  ani și 57,9% (n=11) la vârsta de 30 -39 ani. Anomalii structurale s-au identificat în 100% (n=2) la vârsta de 19 -29 ani, în 33,3% (n=1) la vârsta  $\geq 40$  ani și 21,1% (n=4) la 30 - 39 ani (Tabelul 29).

Tabelul 29. Frecvența variațiilor cromozomiale la bărbații cu azoospermie pe grupe de vârstă

Rezultate citogenetice	Vârsta ani							
	19 – 29		30 - 39		$\geq 40$		Total	
	n=22	%	n=64	%	n=10	%	n=96	%
Sindromul Klinefelter/XXY			10	15,6	1	10,0	11	11,5
Sindromul Jacobs/XYY			1	1,6			1	1,04
45,X/46,XY					1	10,0	1	1,04
Translocații robertsoniene			1	1,7			1	1,04
Translocații reciproce	1	4,5	1	1,6			2	2,1
Inversii	1	4,5	1	1,6			2	2,1
46,XX+SRY					1	10,0	1	1,04
46,Xdel(Y)(q11.21)			1	1,6			1	1,04
Polimorfisme crs.			3	4,7			3	3,13
Situs Fragil			1	1,6			1	1,04
46,XY	20	90,9	45	70,3	7	70,0	72	75,0

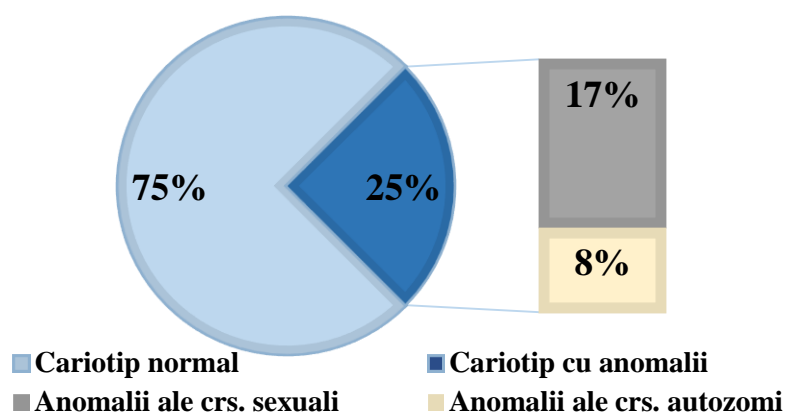


Figura 21. Ponderea anomaliilor cromozomiale la bărbații cu azoospermie (n=96)

Este cunoscut faptul, că anomaliile cromozomilor sexuali sunt cele mai frecvente cauze de infertilitate asociate de cromozomi [50]. În cercetarea noastră, dintre numărul total (n=96) de pacienți cu azoospermie, prevalența anomaliilor cromozomilor sexuali s-a identificat în 16,7% (n=16) cazuri și 8,3% (n=8) cazuri au prezentat anomalii autozomale (Figura 21).

Tabelul 30. Clasificarea variațiilor citogenetice la bărbații cu azoospermie corelate cu vârsta

Rezultatele testelor citogenetice		Vârsta ani						Total	
		19 – 29		30 – 39		≥40			
		n=22	%	n=64	%	n=10	%	n=96	%
Cariotip cu anomalii		2	9,1	19	29,7	3	30,0	24	25,0
Clasificarea anomaliilor cromozomiale	de număr			11	57,9	2	66,7	13	54,2
	de structură:	2	100	4	21,1	1	33,3	7	29,1
	-echilibrată	2	100	3	15,8			5	20,8
	-neechilibrată			1	5,3	1	33,3	2	8,3
	Polimorfism crs.			3	15,8			3	12,5
	Situs Fragil			1	5,3			1	4,2
Tipul crs. implicat	Gonozomale, inclusiv:			13	68,4	3	100	16	66,7
	SK/XXY			10	76,9	1	33,3	11	68,7
	47,XXY			1	7,7			1	4,2
	46,XX+SRY					1	33,3	1	4,2
	45,X/46,XY					1	33,3	1	4,2
	46,Xdel(Y)(q11.21)			1	7,7			1	4,2
	46,XYqh+			1	7,7			1	4,2
	Autozomale, inclusiv:	2	100	6	31,6			8	33,3
	45,XY,rob(13/14)			1	16,7			1	4,2
	46,XY, t(1;19)(23.2q;q12.4)			1	16,7			1	4,2
	46,XY,15ps+			1	16,7			1	4,2
	46,XY,22sts			1	16,7			1	4,2
	46,XY,der(5),t(9;5)	1	50,0					1	4,2
	46,XY, fra(17)(p12)			1	16,7			1	4,2
46,XY,inv(9)(p11q12)	1	50,0					1	4,2	
46,XY,inv(9)(p13.21)			1	16,7			1	4,2	

Anomaliile cromozomiale de număr s-au identificat în 54,2% (n=13) cazuri, urmate de anomaliile cromozomiale de structură în 29,1% (n=7): dintre care; anomalii cromozomiale de structură echilibrate în 20,8% (n=5) și neechilibrate în 8,3% (n=2), în 12,5% (n=3) au fost identificate polimorfisme cromozomiale și în 8,3% (n=1) cariotip cu prezența situsului fragil (Tabelul 30).

Tabelul 31. Caracteristica anomaliilor gonozomale în raport cu cele autozomale la pacienții cu azoospermie

Parametrii	An. crs. gonozomale	An. crs. autozomale	Total	p
<b>Nr. pacienților</b>	n=16	n=8	n=24	
<b>Vârsta (ani)</b>	36,2 ±4,9 35,5 (32,5-39,0)	32,0 ±2,9 32,0 (29,5-34,5)	34,8 ±4,8 34,5 (31,0-36,0)	<b>p=0,037</b>
<b>Volum (ml)</b>	2,2 ±0,7 2,2 (1,5-2,5)	2,4 ±0,8 2,4 (2,0-2,9)	2,2 ±0,7 2,2 (1,8-2,6)	p=0,447
<b>FSH (mIU/ml)</b>	15,4 ±10,3 15,5 (7,5-20,6)	4,9 ±4,8 2,9 (1,8-6,7)	11,9 ±10,1 9,2 (2,9-19,1)	<b>p=0,012</b>
<b>LH (mIU/ml)</b>	15,3 ±8,9 13,0 (8,1-23,3)	6,7 ±4,0 5,8 (3,9-9,2)	12,4 ±8,6 9,9 (5,9-19,5)	<b>p=0,018</b>
<b>Prolactina (ng/ml)</b>	12,9 ±6,5 11,3 (7,0-19,1)	15,9 ±5,6 18,0 (11,3-19,6)	13,9 ±6,2 11,8 (7,9-19,5)	p=0,294
<b>Testosteron (ng/ml)</b>	3,4 ±0,9 3,4 (2,9-3,8)	3,9±1,2 3,7 (2,8-4,9)	3,6 ±1,0 3,4 (2,9-4,1)	p=0,281
<b>Testosteron liber (ng/ml)</b>	7,1 ±6,8 2,8 (2,8-8,4)	15,9±10,5 15,9 (8,4-23,3)	9,6 ±8,3 8,4 (2,8-18,5)	p=0,231

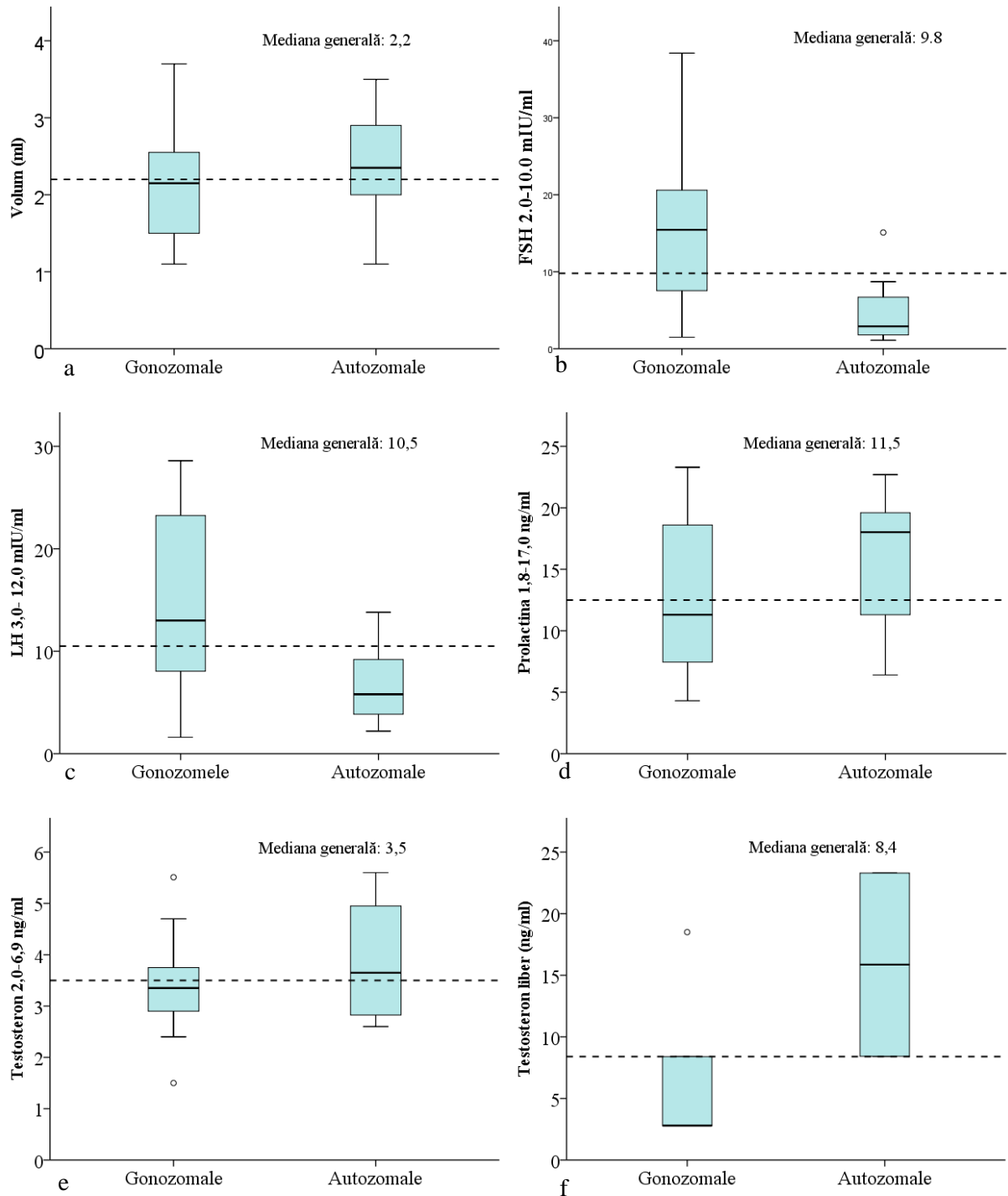
Notă: Media ±DS  
Mediana (IIQ)

Vârsta medie a pacienților cu anomalii cromozomiale gonozomale (n=16) a fost de 36,2 ±4,9 ani, (IQ: 32,5 – 39,0; mediana: 35,5) și la pacienții cu anomalii cromozomiale autozomale (n=8) de 32,0 ±2,9 ani, (IQ: 29,5 – 34,5; mediana: 32,0), prezentând diferențe statistice semnificative între grupuri (F=4,917; p=0,037).

Pentru volumul materialului seminal nu s-au constatat diferențe statistice semnificative (F=0,601; p=0,447), media la pacienții cu anomalii cromozomiale gonozomale fiind de 2,2 ±0,7, (IQ: 1,5 – 2,5; mediana: 2,2) și la cei cu autozomale de 2,4 ±0,8, (IQ: 2,0 – 2,9; mediana: 2,4). În schimb, pentru hormonul FSH se observă diferențe statistice semnificative (F=7,406; p=0,012) între grupele descrise. Media FSH fiind de 15,4 ±10,3, (IQ: 7,5 – 20,6; mediana: 15,5) la subiecții ce au prezentat anomalii cromozomilor sexuali și de 4,9 ±4,8, (IQ: 1,8 – 6,7; mediana: 2,9) la anomaliile autozomale. La fel, pentru hormonul LH se constată diferențe statistice (F=6,576; p=0,018), la pacienții cu anomalii cromozomiale gonozomale cu media de 15,3 ±8,9, (IQ: 8,1 – 23,3; mediana: 13,0) și autozomale de 6,7 ±4,0, (IQ: 3,9 – 9,2; mediana: 5,8). Media pentru hormonul prolactina la subiecții cu anomalii gonozomale este de 12,9 ±6,5, (IQ: 7,0 – 19,1;



mediana: 11,3) și la cei cu autozomale de  $15,9 \pm 5,6$ , (IQ: 11,3 – 19,6; mediana: 18,0), ( $F=1,158$ ;  $p=0,294$ ). Testosteronul s-a înregistrat cu media de  $3,4 \pm 0,9$ , (IQ: 2,9 – 3,8; mediana: 3,4) la subiecții cu anomalii cromozomiale gonozomale și media de  $3,9 \pm 1,2$ , (IQ: 2,8 – 4,9; mediana: 3,7) autozomale, fără diferențe semnificative între aceste categorii ( $F=1,224$ ;  $p=0,281$ ) (Tabelul 31, Figura 22).



**Figura 22. Analiza box plot a caracteristicilor paraclinice la pacienții azoospermi cu anomalii cromozomiale gonozomale și autozomale a: volum; b: FSH; c: LH; d: Prolactina; e: Testosteron; f: Testosteron liber**

Tabelul 32. **Repartizarea anomaliilor cromozomiale gonozomale în raport cu valorile FSH**

Anomalii gonozomale	FSH (mIU/ml)						Total	
	Micșorat <2		Norma 2–10		Mărit >10			
	n=10	%	n=58	%	n=28	%	n=96	%
Total	1	10,0	5	8,6	10	35,7	16	16,7
SK 47,XXY			1	1,7	9	32,1	10	10,4
SK 46,XY/47,XXY					1	3,6	1	1,0
47,XXY			1	1,7			1	1,0
46,XX +SRY			1	1,7			1	1,0
45,X/46,XY	1	10,0					1	1,0
46,Xdel(Y)(q11.21)			1	1,7			1	1,0
46,XYqh+			1	1,7			1	1,0

#### 4.2.1. Sindromul Klinefelter (SK) 47,XXY

Din lotul total (n=96) al bărbaților azoospermici investigați citogenetic, 11 au prezentat disomia X, ce reprezintă 11,5% (Tabelul 30). Rezultatele cercetării sunt comparabile cu datele bibliografice care raportează aceeași frecvență înaltă a Sindromului Klinefelter printre bărbații azoospermici de 10-15%.

Vârsta medie a pacienților cu SK a fost de  $35,5 \pm 4,9$  ani (ÎÎ 95%: 32,3– 38,8; mediana: 35,0) cu valoarea minimă 30 ani și maximă 47 ani. Media infertilității acestora a fost de  $6,3 \pm 3,1$  ani (ÎÎ 95%: 4,2– 8,3; mediana: 6,0) cu valoarea minimă 3 ani și maximă 14 ani (Tabelul 33).

Fenotipul pacienților cu SK este extrem de heterogen, fiind influențat de tipul cariotipului, cât și de vârsta pacientului. În perioada copilăriei, SK frecvent rămâne nedagnosticat din cauza tabloului clinic nesugestiv. În cercetarea actuală, boli în copilărie au prezentat în 63,6% (n=7), dintre care criptorhidie, orhită virală și oreion, cu toate acestea, nu a fost diagnosticat nici un pacient în această perioadă (Tabelul 33). Manifestările clinice se conturează în perioada adultă când apare ginecomastia, hipogonadismul și, respectiv, infertilitatea. Toți pacienții, în cercetarea actuală au fost diagnosticați în perioada adultă datorită infertilității [118, 119].

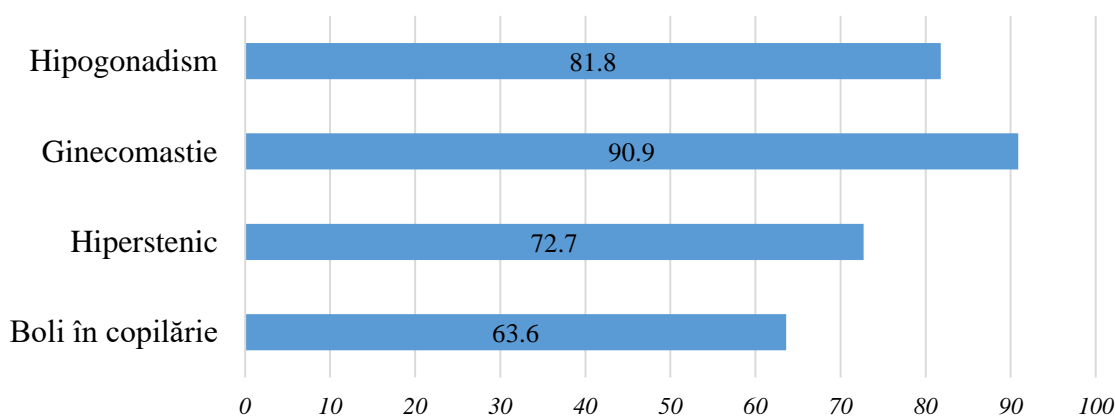


Figura 23. **Prevalența manifestărilor clinice la pacienții cu Sindromul Klinefelter**

Tabelul 33. Caracteristicile clinice și paraclinice la pacienții cu Sindromul Klinefelter

Nr. pacient	64	1	25	38	15	19	56	84	26	31	41	
Vârsta (ani)	30	31	31	33	34	35	36	36	39	39	47	35,6±4,9
Infertilitate (ani)	3	6	7	3	5	7	8	7	4	5	14	6,3±3,1
Studii superioare					√			√				18,2%
47,XXY	√	√		√	√	√	√	√	√	√	√	90,9%
46,XY/47,XXY			√									9,1%
Boli copilărie	√	√		√	√	√	√	√				63,6%
Intervenții chirurgicale					√	√	√				√	36,4%
Infecții					√						√	18,2%
Istoric genetic									√	√	√	27,3%
Hipogonadism	√		√	√		√	√	√	√	√	√	81,8%
Testicule ↓ volum		√			√							18,2%
Hiperstenic	√	√	√		√			√	√	√	√	72,7%
Ginecomastie	√	√		√	√	√	√	√	√	√	√	90,9%
Varicocel						√	√					18,2%
Modificări prostată		√				√	√	√	√		√	54,5%
Abțința (zile)	3	5	4	5	5	7	6	3	5	3	4	4,6±1,3
Volum (ml)	2,0	2,6	2,5	2,2	2,7	1,5	1,5	3,0	2,2	1,1	1,5	2,1±0,6
Timp de lichefiere	25	30	35	40	40	40	40	25	45	40	50	37,3±7,9
pH	6,8	7,3	7,1	7,7	7,2	8,2	7,5	6,7	7,1	7,8	7,0	7,3±0,5
Leucocite	0,0	0,1	0,0	0,6	1,6	0,0	0,1	0,1	1,8	1,1	1,5	0,6±0,7
Spermatozoizi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
FSH (mIU/ml)	19,0	11,2	19,9	21,3	8,2	21,6	32,4	38,4	13,9	19,2	17,0	20,2±8,7
LH (mIU/ml)	↑	↑	↑	↑	↔	↑	↑	↑	↑	↑	↑	
Prolactina (ng/ml)	7,9	11,8	4,3	22,8	7,0	5,3		19,1	11,3	23,3	17,0	13,0±7,1
Testosteron (ng/ml)	↔	↔	↔	↑	↔	↔		↑	↔	↑	↔	
Testosteron liber	3,2	5,5	3,1	3,8	2,9	4,7	3,5	2,4	2,9	3,7	1,5	3,4±1,1
	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↓	
	2,8		8,4		2,8			2,8		18,5		7,1±6,8

În perioada de pubertate, se întâlnește frecvent ginecomastia, o slabă dezvoltare a caracterelor sexuale secundare, testiculele rămân a fi mici, de consistență dură, nedezvoltate și nu ajung niciodată dimensiunile normale, tendința la creșterea excesivă în înălțime, retard cognitiv-verbal [60]. În cercetarea actuală, ginecomastia este prezentă în 90,9% (n=10), hipogonadismul în 81,8% (n=9), constituția hiperstenică în 72,7% (n=8) (Tabelul 33, Figura 23).

Conform rezultatelor citogenetice, cea mai frecventă variantă cromozomială diagnosticată la cei 11 pacienți infertili cu SK a fost forma omogenă a trisomiei 47,XXY (10 cazuri – 90,9%), urmată de forma mozaică aceleași forme clasice 47,XXY/46,XY (1 caz – 9,1%) (Figura 24, Figura 25).

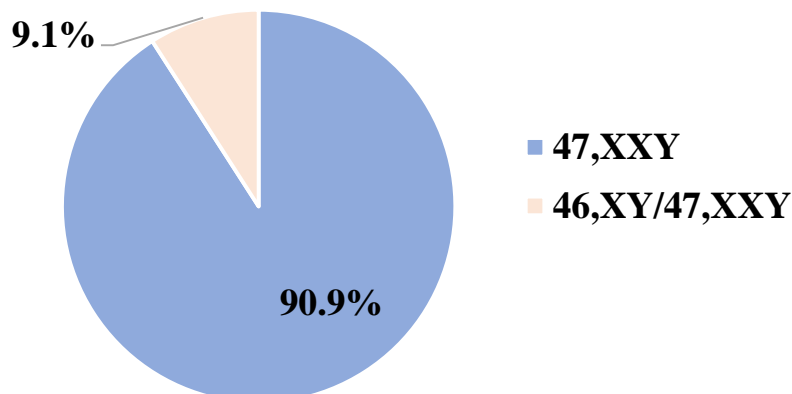


Figura 24. Structura variantelor citogenetice diagnosticate la pacienții cu Sindromul Klinefelter

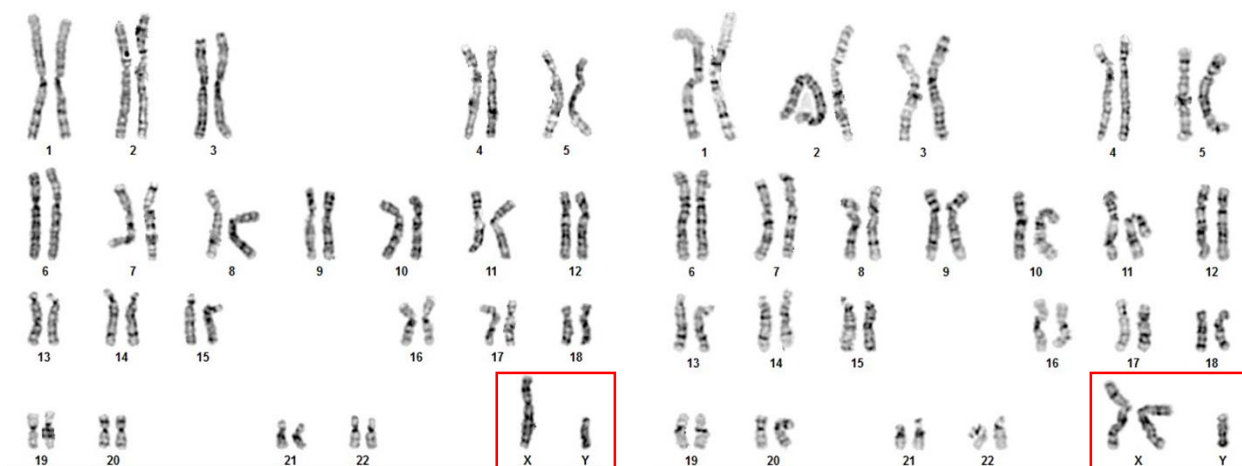


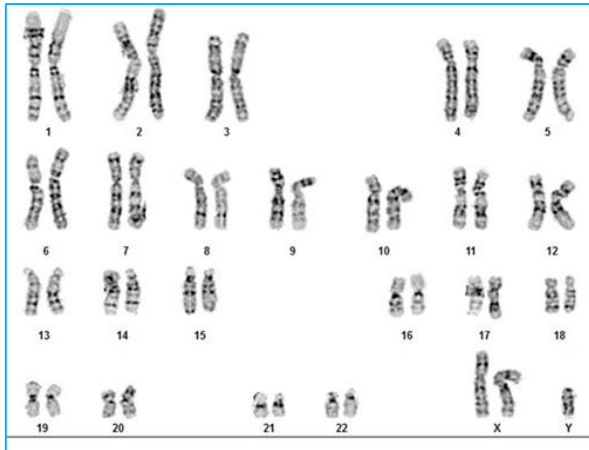
Figura 25. Cariotip 46,XY/47,XXY la pacientul nr. 25, vârsta 31 ani

Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5; Nivel de rezoluție al benzilor: 575-675; Rezultat (Conform ISCN 2016) **46,XY/47,XXY**

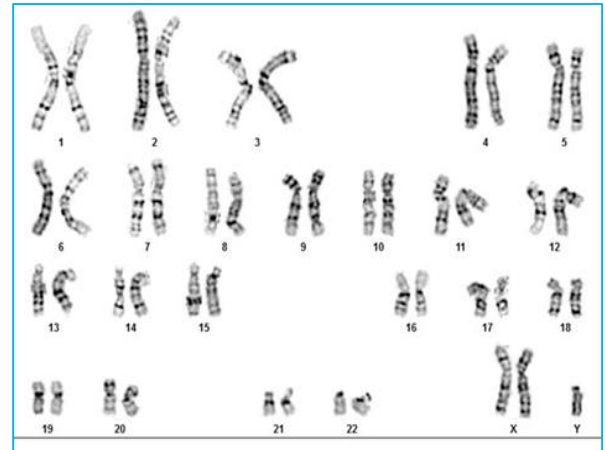
A fost identificat un cariotip anormal, având 2 linii celulare distincte (mozaicism cromozomial):

- o linie celulară cu 46 de cromozomi (46,XY), în 3 celule analizate (20%)
- o linie celulară un cariotip masculin anormal cu 47 de cromozomi, având un cromozom X suplimentar în perechea de cromozomi sexuali (47,XXY), în 12 celule analizate (80%) (Figura 25).

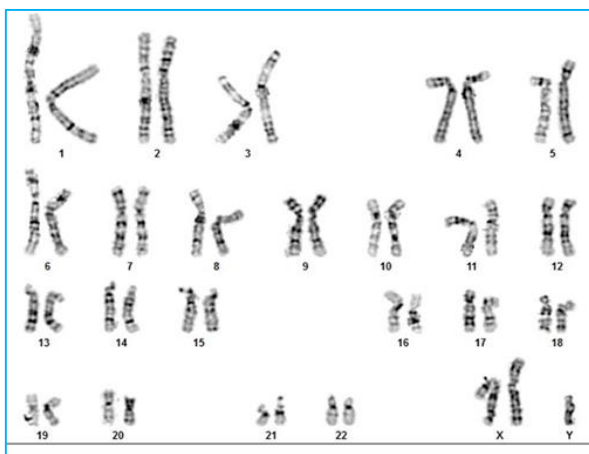
Variantele citogenetice clasice unde a fost identificat cariotipul- 47,XXY, prezentând cromozomul X suplimentar în perechea de cromozomi sexuali, în toate celulele analizate, la cei 10 pacienți sunt prezentate în următoarele figuri (Figura 26, Figura 27).



a. Pacient nr. 1, vârsta 31 ani



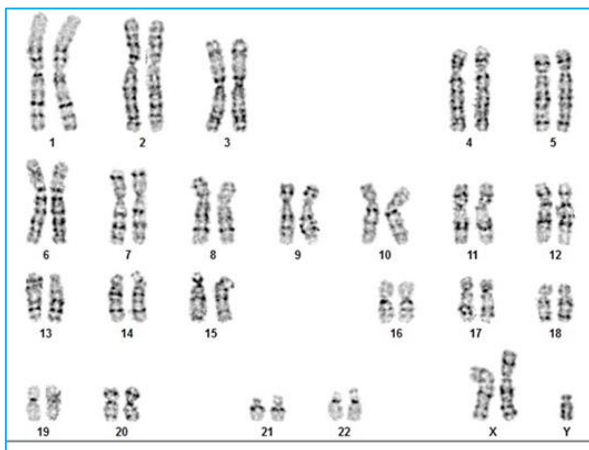
b. Pacient nr. 15, vârsta 34 ani



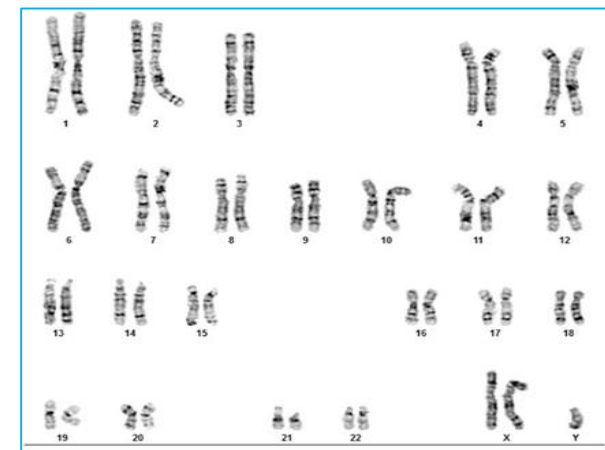
c. Pacient nr. 19, vârsta 35 ani



d. Pacient nr. 26, vârsta 39 ani

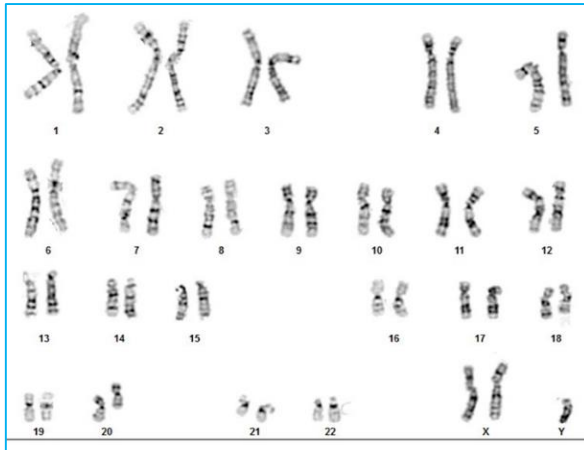


e. Pacient nr. 31, vârsta 39 ani

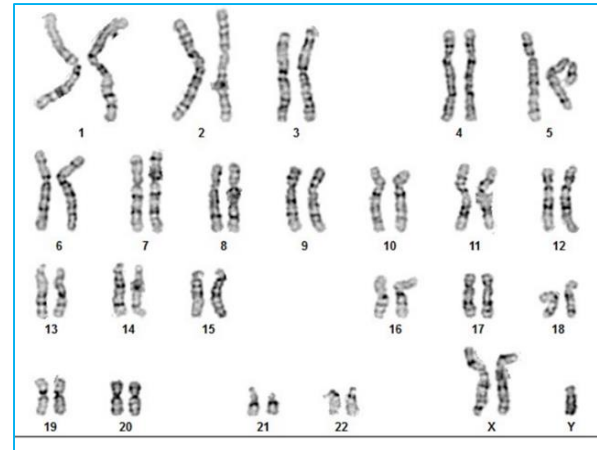


f. Pacient nr. 38, vârsta 33 ani

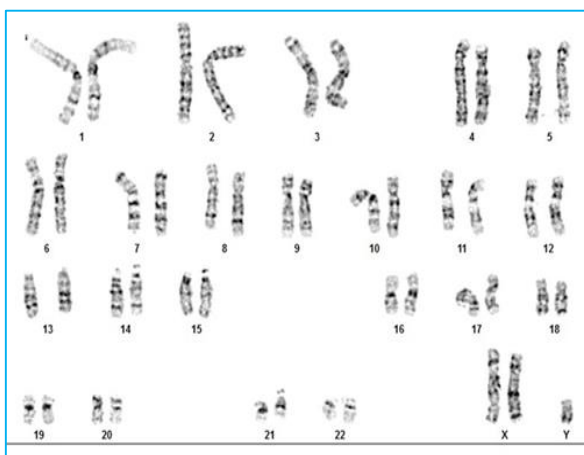
Figura 26. Varianta citogenetică forma clasică a Sindromului Klinefelter, 47,XXY: a, b, c, d, e, f Tehnica de bandare cromozomială GTG; Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5 – a, b, c, d, e, f; Nivel de rezoluție al benzilor: a, b, d, e – 550; c – 575; f – 660; Rezultat (Conform ISCN 2016): 47,XXY



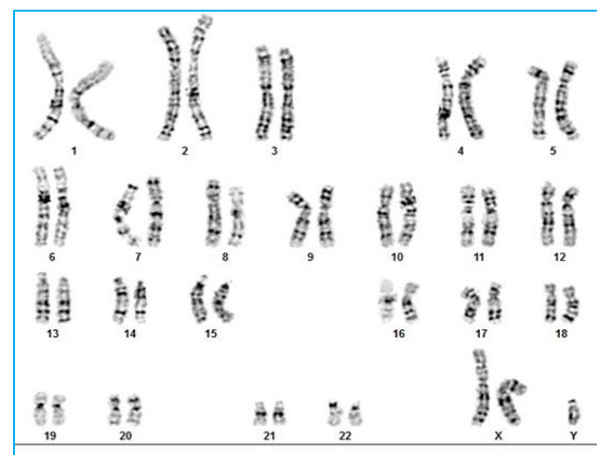
a. Pacient nr. 41, vârsta 47 ani



b. Pacient nr. 56, vârsta 36 ani



c. Pacient nr. 64, vârsta 30 ani



d. Pacient nr. 84, vârsta 36 ani

Figura 27. **Varianta citogenetică forma clasică a Sindromului Klinefelter, 47,XXY: a, b, c, d**  
 Tehnica de bandare cromozomială GTG; Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5 – a, b, c, d; Nivel de rezoluție al benzilor: a, b, c – 550; d – 575; Rezultat (Conform ISCN 2016): 47,XXY

Variantele citogenetice diagnosticate în cercetarea actuală vin în confirmarea datelor din literatură, care relatează aceeași incidență înaltă de 80-90% pentru forma clasică 47,XXY a SK și în, aproximativ, 20% se descriu formele mozaice. Aneuploidia 47,XXY este cea mai frecventă anomalie cromozomială, având o incidență care variază de la 1/500 până la 1/1.000. Restul variantelor citogenetice ce includ polisomiile X se întâlnesc rar: 48,XXXXY (1/50.000); 49,XXXXXY (1/85.000) [55, 56].

Diagnosticarea variantei citogenetice în SK prezintă o mare semnificație clinică, deoarece severitatea tabloului clinic este direct proporțională cu numărul de cromozomi X supranumerari. Fenotipul depinde de severitatea expresiei dezechilibrului genetic ale genelor, ce scapă inactivarea, a deficitului de androgeni și a sensibilității receptorului de androgeni. Cu cât dezechilibrul genic, deficitul de androgeni și afectarea sensibilității receptorilor de androgeni sunt mai grave, cu atât fenotipul va fi mai sever. Fenotipul pacienților cu SK se agravează progresiv cu severitatea

polisomiei (de exemplu, 49,XXXXY). Tulburările de limbaj și vorbire devin mai severe odată cu creșterea numărului de cromozomi X, contribuind la scăderea coeficientului de inteligență (IQ) cu 15-16 puncte pentru fiecare cromozom X suplimentar [56, 60, 61, 120]

La pacienții cu SK au fost evaluați indicii biochimici asociați și comparați cu valorile prezentate de pacienții azoospermici cu cariotip normal. Nivelurilor serice crescute ale hormonilor FSH și LH sunt caracteristice, în special, SK. Valoarea medie a nivelului hormonului FSH pentru pacienții cu SK fiind de  $20,2 \pm 8,7$  mIU/ml, (Î 95%: 14,3-26,1; mediana 19,2) cu valoarea minimă de 8,2 mIU/ml și valoarea maximă de 38,4 mIU/ml, mult mai mare comparativ cu pacienții cu cariotip normal de  $7,7 \pm 7,3$  mIU/ml, (Î 95%: 5,9-9,4; mediana 4,7) cu valoarea minimă de 0,9 mIU/ml și valoarea maximă de 40,7 mIU/ml ( $F= 26,499$ ;  $p=0,000$ ).

Tabelul 34. Caracteristica comparativă a valorilor markerilor endocrini ale pacienților cu Sindromul Klinefelter și cu cariotip 46,XY

		Nr.abs	Media	Î 95%	Mediana	Percentila 25 - 75	Minim - Maxim
FSH (mIU/ml) $F= 26,499$ $p=0,000$	SK	11	$20,2 \pm 8,7$	14,3 - 26,1	19,2	1,9 - 21,6	8,2 - 38,4
	46,XY	72	$7,7 \pm 7,3$	5,9 - 9,4	4,7	2,9 - 10,0	0,9 - 40,7
	Total	83	$9,3 \pm 8,6$	7,4 - 11,2	5,8	3,4 - 13,9	0,9 - 40,7
LH (mIU/ml) $F= 45,297$ $p=0,000$	SK	11	$19,5 \pm 7,3$	14,6 - 24,4	21,5	11,0 - 26,7	9,3 - 28,6
	46,XY	65	$7,2 \pm 5,3$	5,9 - 8,5	5,4	3,8 - 9,0	1,0 - 27,7
	Total	76	$9,0 \pm 7,1$	7,3 - 10,6	6,7	4,0 - 12,0	1,0 - 28,6
Prolactina (ng/ml) $F= 2,419$ $p=0,124$	SK	10	$13,0 \pm 7,1$	7,9 - 18,1	11,5	7,0 - 19,1	4,3 - 23,3
	46,XY	62	$18,9 \pm 11,6$	15,9 - 21,8	15,9	12,0 - 19,8	5,6 - 65,0
	Total	72	$18,1 \pm 11,2$	15,4 - 20,7	15,7	11,4 - 19,7	4,3 - 65,0
Testosteron (ng/ml) $F= 0,909$ $p=0,344$	SK	11	$3,4 \pm 1,1$	2,7 - 4,1	3,2	2,9 - 3,8	1,5 - 5,5
	46,XY	63	$3,0 \pm 1,3$	2,7 - 3,3	3,0	2,0 - 3,6	0,7 - 6,2
	Total	74	$3,0 \pm 1,3$	2,7 - 3,3	3,0	2,1 - 3,7	0,7 - 6,2
Testosteron liber $F= 2,633$ $p=0,119$	SK	5	$7,1 \pm 6,8$	1,4 - 15,6	2,8	2,8 - 8,4	2,8 - 18,5
	46,XY	19	$13,8 \pm 8,6$	9,7 - 18,0	14,0	6,6 - 17,5	1,7 - 35,5
	Total	24	$12,4 \pm 8,6$	8,8 - 16,0	13,5	3,9 - 16,4	1,7 - 35,5

Media totală a nivelului hormonului LH la pacienții cu SK a înregistrat valoarea de  $19,5 \pm 7,3$  mIU/ml, (Î 95%: 14,6-24,4; mediana 21,5) cu valoarea minimă de 9,3 mIU/ml și valoarea maximă de 28,6 mIU/ml, la fel, mult mai mare comparativ cu pacienții cu cariotip normal  $7,2 \pm 5,3$  mIU/ml, (Î 95%: 5,9-8,5; mediana 5,0) cu valoare minimă de 1,0 mIU/ml și valoarea maximă de 27,7 mIU/ml ( $F= 45,297$ ;  $p=0,000$ ). Valoarea medie a nivelului de testosteron la pacienții SK este egală cu  $3,4 \pm 1,1$  ng/ml, (Î 95%: 2,7-4,1; mediana 3,2), oscilând între 2,9 ng/ml și 3,8 ng/ml, iar la pacienții 46,XY–  $3,0 \pm 1,3$  ng/ml; (Î 95%: 2,7-3,3; mediana 3,0), oscilând între 2,0 ng/ml și 3,6 ng/ml. Se observă, că media pentru testosteronul liber la pacienții SK este mai joasă comparativ

cu pacienții ce prezintă cariotip normal. Media testosteron liber la pacienții SK fiind de  $7,1 \pm 6,8$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 1,4-15,6; mediana 2,8), iar la 46,XY –  $13,8 \pm 8,6$  ng/ml; ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 9,7-18,0; mediana 14,0) (Tabelul 34, Figura 28).

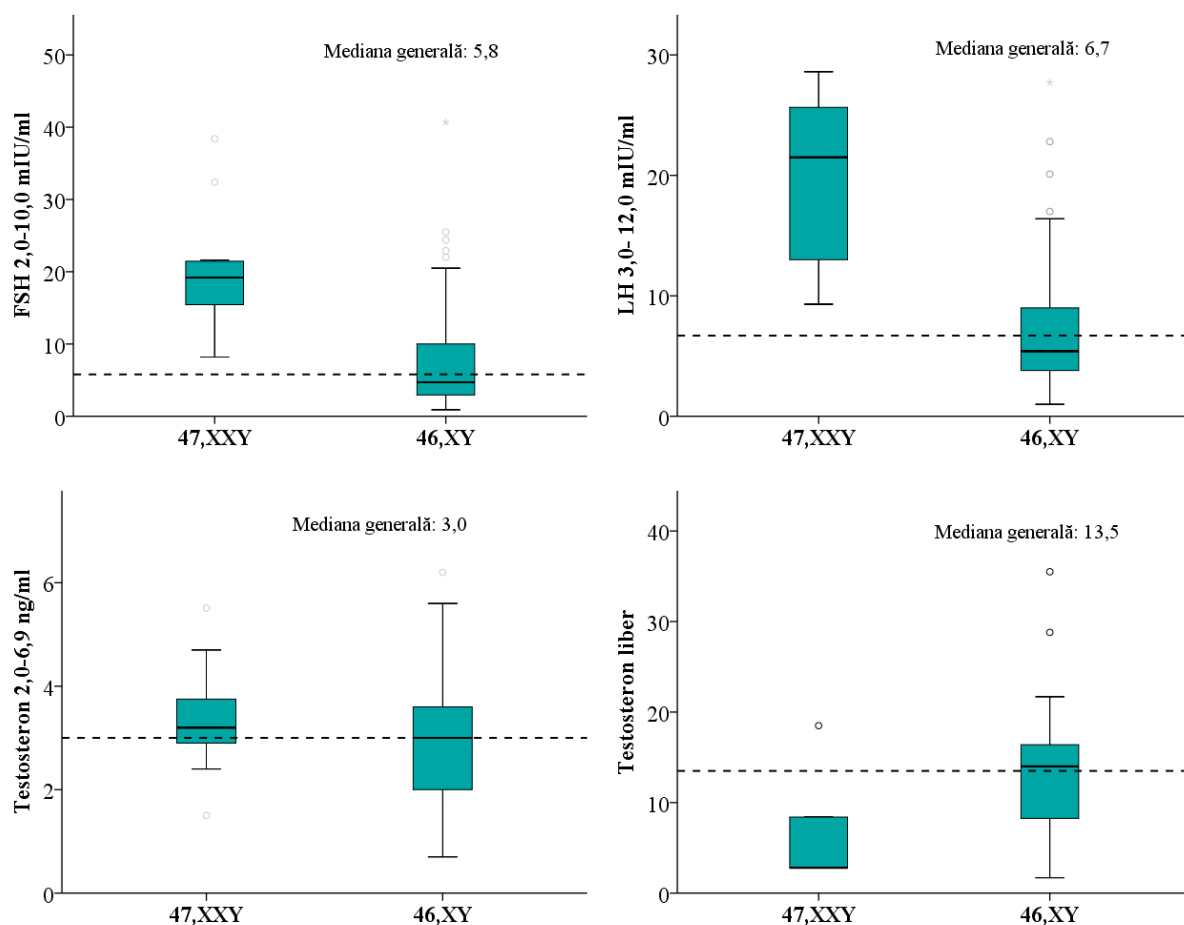


Figura 28. Valorile medii și medianele pentru FSH, LH, testosteron la pacienții cu SK și 46,XY

Nivelul mediei prolactinei nu a diferentiat semnificativ ( $F=0,909$ ;  $p=0,344$ ) la pacienții cu SK, fiind de  $13,0 \pm 7,1$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 7,9-18,1; mediana 11,5) cu cel mai mic nivel de 4,3 ng/ml și cel mai mare de 23,3 ng/ml, în raport cu pacienții cu cariotip normal –  $18,9 \pm 11,6$  ng/ml, ( $\hat{I}\hat{I}$  95%: 15,9-21,8; mediana 15,9) cu cel mai mic nivel de 5,6 ng/ml și cel mai mare de 65,0 ng/ml (Tabelul 34, Figura 29).

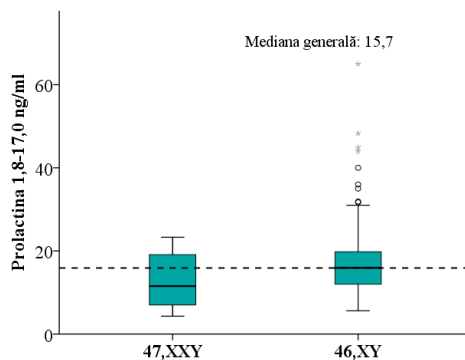


Figura 29. Valorile medii și medianele pentru prolactina la pacienții cu SK și 46,XY



Aproximativ, 90% dintre adulții cu SK suferă de hipogonadism hipergonadotrop cu niveluri de testosteron scăzute până la limită normală, creșterea hormonului FSH și LH, acest fenomen se observă și în studiul actual. Conform studiilor, diagnosticarea markerilor endocrini la acești pacienți este importantă pentru evaluarea șanselor referitor la recuperarea spermei testiculare. În literatură, există rezultate contradictorii, care arată asocierea dintre nivelurile de hormoni serici și rezultatul recuperării spermei testiculare la pacienții cu Klinefelter. Unele studii susțin că nivelurile ridicate ale testosteronului și nivelurile scăzute ale FSH și LH sunt factori predictivi de succes pentru recuperarea spermatozoizilor prin tehnica microTESE, în timp ce nivelurile de testosteron scăzute și valori ridicate ale FSH și LH sunt asociate cu rezultate mai proaste pentru recuperarea spermatozoizilor [121].

Bărbații cu SK prezintă hialinizare progresivă și fibroză tubiilor seminiferi odată cu înaintarea în vârstă. Astfel, a fost sugerat că, cu cât este mai tânără vârsta la care se efectuează recuperarea spermei, cu atât sunt mai mari șansele de a găsi spermatozoizi. În timp ce unele studii nu au reușit să arate un efect al vârstei asupra ratelor de recuperare a spermatozoizilor la pacienții cu SK, alte studii afirmă că vârsta reprezintă principalul factor semnificativ, care prezice succesul recuperării spermatozoizilor la pacienții cu SK [69, 72, 73]. În plus, există o reducere semnificativă în ratele de succes ale recuperării spermatozoizilor în SK peste vârsta de 35 de ani [121]. Cu regret, în studiul actual pacienții cu SK au fost diagnosticați la vârsta tardivă cu media de  $35,6 \pm 4,9$  ani. Cu toate că 5 pacienți au fost diagnosticați la vârsta de până la 34 ani, dar recuperarea spermei testiculare a fost recomandată la 3 pacienți, care prezentau valori ale markerilor endocrini FSH și LH mai mici și inclusiv la pacientul cu forma mosaică 46,XY/47,XXY. Recuperarea spermatozoizilor la acești pacienți nu a fost posibilă, deoarece în laboratorul în care s-a realizat cercetarea posibilitatea de recuperare a spermatozoizilor a fost tehnica TESE, dar la pacienții cu SK, conform surselor de specialitate, se recomandă tehnica microTESE [122].

Din anamneza 2 pacienți au fost suspectați cu SK de la vârsta de 18 și 19 ani respectiv, cu regret, acești pacienți, deși au fost suspecti cu acest sindrom de la o vârstă mai tânără, nici unul nu a fost îndreptat la consultul medico-genetic pentru confirmarea diagnosticului. Aceste situații descriu unele lacune ale sistemului medical, care împiedică diagnosticarea timpurie și inițierea unor măsuri de ameliorare ale îmbunătățirii calității vieții și, inclusiv, prevenirea infertilității. Este important de consiliat familiile care au băieți tineri cu SK și prezintă spermatozoizii în ejaculat, ar trebui, cu siguranță, sfătuiți să crioconserveze probele de spermă pentru utilizarea ulterioară a lor în tehnica ICSI [70].

#### 4.2.2. Sindromul Jacobs 47,XYY

Din lotul total (n=96) al bărbaților azoospermici investigați citogenetic un caz a fost diagnosticat cu disomia Y cu o frecvență de 1,04% (Tabelul 30). Conform examenului citogenetic, prezența cromozomului Y suplimentar s-a identificat în toate celulele analizate, cu formula cariotipului 47,XYY (Figura 30). Sindromul 47,XYY este relativ frecvent, observat la 1 din 1000 de nou născuți de sex masculin, fiind a doua cea mai frecventă anomalie a cromozomilor sexuali după sindromul Klinefelter.

Cu toate acestea, până la 85% dintre bărbații XYY nu sunt diagnosticați. Diagnosticul acestor pacienți este, de obicei, tardiv, vârsta medie de depistare a maladiei fiind 17,1 ani, conform unui studiu danez de cohortă. Aceasta se datorează fenotipului aparent normal în majoritatea cazurilor [123, 124]. Fenomenul indicat a fost observat și în cazul investigat de noi. Bărbatul de 35 ani nu a prezentat semne clinice sugestive pentru a suspecta o anomalie cromozomială, motivul examinării citogenetice fiind infertilitatea cauzată de azoospermie.

În general, fenotipul este masculin, cu hipogonadism, criptorhidie, statură înaltă, acnee severă, prezența dismorfismelor faciale. Pacienții au probleme de comportament, prezintă dificultăți de învățare și retard verbal. Caracterele impulsive și agresivitatea, de asemenea, pot caracteriza acest sindrom. Studii recente au arătat că acest cariotip s-ar întâlni și la pacienții cu unele forme de psihopatii. Unele studii descriu prezența clinodactiliei și hipertelorismului, de asemenea, pot fi prezente autismul, tremurul și epilepsia [124, 125]

Pacientul descris de noi prezintă, la fel ca și la majoritatea pacienților, statură înaltă ce se poate datora expresiei a trei copii ale genei SHOX, care este situată pe brațele distale în regiunea pseudoautosomală ale cromozomilor-Xp și Yp [86].

Conform datelor bibliografice, majoritatea celor cu cariotipul 47,XYY prezintă spermatogeneză normală, în timp ce, minoritatea pot avea diferite grade de afectare a spermatogenezei de la normală până la azoospermie [86, 125]. În cazul nostru, pacientul a prezentat azoospermie, aceasta, se poate explica prin modul anormal de împerechere cauzat de prezența cromozomului Y suplimentar în timpul spermatogenezei. Biopsia testiculară efectuată la bărbatul cu azoospermie a demonstrat prezența SCO sau degenerarea celulelor germinale. Nivelul FSH este, de obicei, ridicat la acești pacienți ca răspuns la o spermatogeneză inadecvată, pe când nivelul testosteronului este în limitele normei sau puțin crescut. La pacientul dat nivelul FSH și testosteronului fiind în limitele normale. Studiile care au comparat spermograma bărbaților fertili și infertili cu sindromul XYY au demonstrat că majoritatea spermatozoizilor acestor bărbați au un cariotip normal [124]. Chiar și dacă este prezentă anomalia cromozomială, mulți bărbați cu cariotip 47,XYY rămân fertili. Aceasta se explică, prin faptul că cromozomul Y, suplimentar, se pierde înainte de meioză, astfel, conservând fertilitatea la acești pacienți. În acest fel, are loc producerea

în mare parte a spermatozoizilor cu cariotip normal [86, 125]. Conform cercetărilor, deși cromozomul Y suplimentar este eliminat în primele etape ale spermatogenezei, celulele germinale XYY pot completa meioza și pot produce atât spermatozoizi normali, cât și aneuploizi, cu risc crescut atât pentru anomalii ale cromozomilor sexuali, cât și autosomali. Prin urmare, la acești pacienți ar putea fi argumentată necesitatea diagnosticului genetic preimplantator (PGD) înainte de tratamentul pentru reproducerea asistată [86].



Figura 30. **Cariotip 47,XYY al pacientului cu vârsta de 35 ani**  
 Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 25; Metafaze cariotipate: 5;  
 Nivel de rezoluție al benzilor: 575-675;

#### 4.2.3. Sindromul de la Chapelle cu inversie de sex, bărbat 46,XX

La un bărbat azoospermic din numărul total ( $n=96$ ) a fost identificat cariotipul 46,XX (1,04%) (Tabelul 30). Frecvența bărbaților 46,XX în populația generală fiind foarte rară (1 din 20.000), se identifică în cazul bărbaților azoospermici în 0,9% și normozoospermici de la 1-3% [76]. Caracteristicile clinice și paraclinice ale acestui pacient sunt relatate în cazul ce urmează.

Prezentare de caz: Tulburarea testiculară de dezvoltare sexuală (DSD) 46,XX.

Subiectul și caracteristicile fenotipice: Raportăm cazul unui pacient cu vârsta de 40 ani, îndreptat pentru consultație genetică din motive de infertilitate în cuplu cu o istorie de 9 ani. Conform anamnezei: pacientul a prezentat în copilărie criptoorhidie, neagă infecții cu transmitere sexuală în antecedent și traumatisme în regiunea testiculelor. În urma evaluării pacientului, fenotipul și identitatea psihologică fiind de sex masculin, cu o înălțime de 166,5 cm și greutate de 72,3 kg. Examenul urologic a descris organele urogenitale, caracteristice sexului masculin, testiculele coborâte în scrot, dimensiunile fiind reduse.

Evaluări paraclinice: a efectuat prima spermogramă cu azoospermie confirmată, urmată de a doua spermogramă similară cu precedentă. Parametrii spermogramei au prezentat volumul - 2,4 ml; pH - 7,7; leucocite - 1 mln/ml; timp de lichefiere 30 min. Markerii endocrini ai pacientului fiind în limitele normale, hormonul foliculostimulant (FSH) de 9,8 mIU/ml (interval norma de 2,0-10,0 mIU/ml), hormonul luteinizant (LH) de 7,7 mIU/ml (interval norma este de 2,0-12,0 mIU/ml), prolactina de 7,0 (1,8-17,0 ng/ml) concentrația de testosteron în ser de 4,1 ng/ml (interval norma 2,0-6,9 ng/ml). Ecografia organelor scrotului a relatat pentru testiculul drept: dimensiunea de 42,05 x 24,1 x 17,38 mm; volum 9,19 cm<sup>3</sup>; contur regulat; structura discret neomogenă cu focare mici reflectogene, fără con de umbră; parenchimul vascularizat în formă de flux diminuat; epididimul omogen; spațiul vaginal cu lichid liber în cantitatea normală. Pentru testiculul stâng: dimensiunea de 29,83 x 10,43 x 18,35 mm; volum 3,00 cm<sup>3</sup>; contur regulat; structura; parenchimul vascularizat în formă de flux diminuat; epididimul omogen; spațiul vaginal cu lichid liber în cantitatea normală. Plexul venos scrotal nedilatat cu concluzia de hipotrofia testiculară bilateral. Examenul citogenetic: pacientul cu fenotip masculin a prezentat un cariotip (46,XX) cu 46 de cromozomi, având 2 cromozomi X în perechea de cromozomi sexuali, în toate celulele analizate, caracteristic feminin (Figura 31), fără dovezi de mozaicism, anomalii cromozomiale structurale sau numerice. Numărul de metafaze analizate au fost 33, dintre care 10 cariotipate, nivelul de rezoluție al benzilor fiind 575 – 700. S-a practicat suplimentar testul FISH (Fluorescence in situ hybridization) cu sonde pentru cromozomul X (DXZ1, Xp11.1-q11.1) și Y (SRY, Yp11.32 și DYZ1,Yq12), care a evidențiat două semnale pentru cromozomul X și un semnal pentru cromozomul Y (SRY, Yp11.32). Analiza moleculară a markerelor specifici a cromozomului Y- SY 81, SY 84, sDBY1 și sY620 din regiunea AZFa; SY 127, SY 134, sY117 și sY143 din regiunea AZFb; SY 254 și SY 255, sY153 și sY158 din regiunea AZFc, a evidențiat absența lor în ADN-ul pacientului și prezența ZFX și SRY. Aceste rezultate confirmă faptul că pacientul este un bărbat de sex masculin XX, cu prezența genei SRY alți markeri specifici cromozomului Y (Figura 32).

În urma evaluării citogenetice, cariotip 46,XX, testului FISH ce a prezentat două semnale pentru cromozomul X și un semnal pentru cromozomul Y (SRY, Yp11.32), cât și molecular genetic ce deduce prezența genei SRY, s-a stabilit diagnosticul: tulburarea testiculară de dezvoltare sexuală (DSD), inversia de sex, bărbat XX sau sindromul de la Chapelle.



Figura 31. Cariotip **46,XX** în toate celulele analizate la bărbat de 40 ani (Metafaze numărate: 33; Metafaze cariotipate: 10; Nivelul de rezoluție al benzilor: 575 – 570)

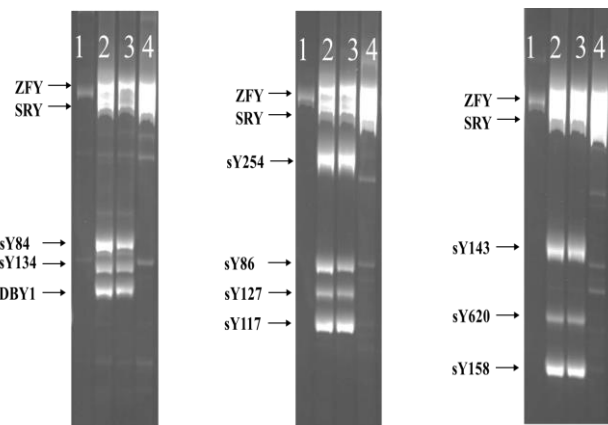


Figura 32. Rezultatul electroforezei pentru detectarea markerilor Y la bărbatul cu 46,XX  
1 – Control feminin;  
2, 3 – Bărbat normal;  
4 – Bărbat cu **deleții** ale regiunii **AZF** (a, b, c)

Diagnosticul clinic stabilit a fost Sindromul de la Chapelle, care este un sindrom de inversare a sexului caracterizat printr-un cariotip feminin în discordanță cu un fenotip masculin. Mai frecvent, acest sindrom în literatura de specialitate, se descrie sub formă de cazuri sporadice, deși au fost raportate și cazuri familiale [126]. În baza istoricului familial al pacientului descris, la fel, a fost considerat sporadic. Mecanismul de producere a bolii în majoritatea cazurilor 80% este cauzat printr-un crosing-over inegal între cromozomii X și Y în timpul recombinării materialului genetic din profaza I a meiozei, având ca rezultat translocarea genei SRY de pe cromozomul Y pe cromozomul X sau pe cromozomii autozomali [127]. Datorită acestui fapt se întâlnesc două categorii, SRY pozitivi în 80% din pacienți și restul 20% în SRY negativi [76]. Cazul prezentat, la fel, se referă la categoria SRY pozitivi, fiind depistată prezența genei SRY prin examenul molecular genetic multiplex PCR.

Datorită fenotipului, relativ, normal și a organelor de sexualizare, diagnosticarea timpurie a acestui sindrom este dificilă. Majoritatea pacienților fiind diagnosticați după pubertate când sunt evidente hipogonadismul, azoospermia și incapacitatea de a concepe copii. Cazul descris a fost diagnosticat la vârsta tardivă de 40 de ani datorită aceleași cauze menționate anterior azoospermie și infertilitate. Azoospermia se datorează lipsei genelor din regiunea AZF a cromozomului Y-Yq11.23 [76].

În timpul consilierii genetice, în ceea ce privește posibilitatea de a concepe un copil, s-a recomandat posibilitatea de a înfia s-au utiliza spermă de la donator. În cazul pacienților cu DSD testiculară, nu se recomandă extragerea spermei testiculare, spermatogeneza reziduală nu poate fi prezentă în testicule. Evaluarea histologică a țesutului testicular al bărbaților XX denotă prezența Sindromului celulelor Sertoli și hiperplazia celulelor Leydig. În tratamentul pacienților 46,XX cu

insuficiență testiculară, trebuie avută în vedere abordarea multidisciplinară, suportul psihologic este o parte importantă a abordării holistice [76]. În concluzie, anomaliile cromozomiale precum DSD testicular SRY-pozitiv 46,XX pot fi diagnosticate în clinicile de reproducere asistată în timpul examinării citogenetice și molecular genetice pentru a elucida cauza infertilității.

#### **4.2.4. Disgenezia gonadică mixtă la bărbat 45,X/46,XY**

La un pacient cu azoospermie a fost identificat mozaicul 45,X/46,XY (Tabelul 30) ce se întâlnește rar cu o frecvență de 1/15.000 nou-născuți. Semnificația mozaicului 45,X/46,XY în sursele bibliografice este controversată și prezintă o mare provocare clinică, deoarece prezintă manifestări clinice de severitate variabilă de la probleme de fertilitate, organe genitale ambigue până la bărbați fenotipic normali [14]. Caracteristicile fenotipice ale pacientului cu 45,X/46,XY sunt prezentate în următorul caz.

##### Prezentare de caz: Disgenezia gonadică mixtă: 45,X/46,XY.

Subiectul și caracteristicile fenotipice: A fost evaluat în cadrul consultului medico-genetic un bărbat de 46 de ani, căsătorit, cu o istorie de 11 ani de infertilitate. Fenotipul și identitatea psihologică a pacientului de sex masculin, cu o statură de 157 cm și greutate de 72 kg. Evaluarea urologică a atestat organe urogenitale caracteristice sexului masculin, testicule prezente în scrot cu dimensiuni reduse semnificativ, adenom de prostată. Rezultatele parametrilor materialului seminal au prezentat următoarele: abținere (zile) - 3; volum (ml) - 2,1; timp de lichefiere (min) - 45; leucocite (mln/ml) - 1,0; pH - 7,5, spermatozoizi - 0. La evaluarea markerelor endocrini, s-au atestat următoarele rezultate: FSH de 1,5 mIU/ml (interval de referință 2,0-10,0 mIU/ml); LH 1,6 mIU/ml (interval de referință 3,0-12,0 mIU/ml); concentrația de testosteron în ser de 3,7 ng/ml (interval de referință 2,5-10,0 ng/ml). Examenul citogenetic: tehnica Giemsa- GTG, nivelul de rezoluție al benzilor fiind 550; au fost analizate 30 metafaze, dintre care 10 metafaze - cariotipate. A fost identificat un cariotip cu 2 linii celulare distincte (mozaicism cromozomial): o linie celulară cu 45 de cromozomi, având un singur cromozom X în perechea de cromozomi sexuali (monosomie X - 45,X), în 3 celule analizate (20%); o linie celulară masculin aparent normală cu 46 de cromozomi (46,XY), în 12 celule analizate (80%). Rezultatul citogenetic conform nomenclaturii *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* din anul 2016- 45,X/46,XY (Figura 33). Examenul molecular-genetic multiplex PCR al markerilor cromozomului Y: a relatat prezența markerilor specifici pentru cromozomul Y pentru genele ce controlează spermatogeneza din locusul azoospermia factor (AZF): SY 81, SY 84, DBY1, sY620 pentru AZFa; SY 127, SY 134, sY117, sY143 pentru AZFb; SY 254, SY 255, sY153, sY158

pentru AZFc; a fost documentată prezența genei SRY, în cromozomul Y, cât și genei ZFY/ZFX în cromozomul X.

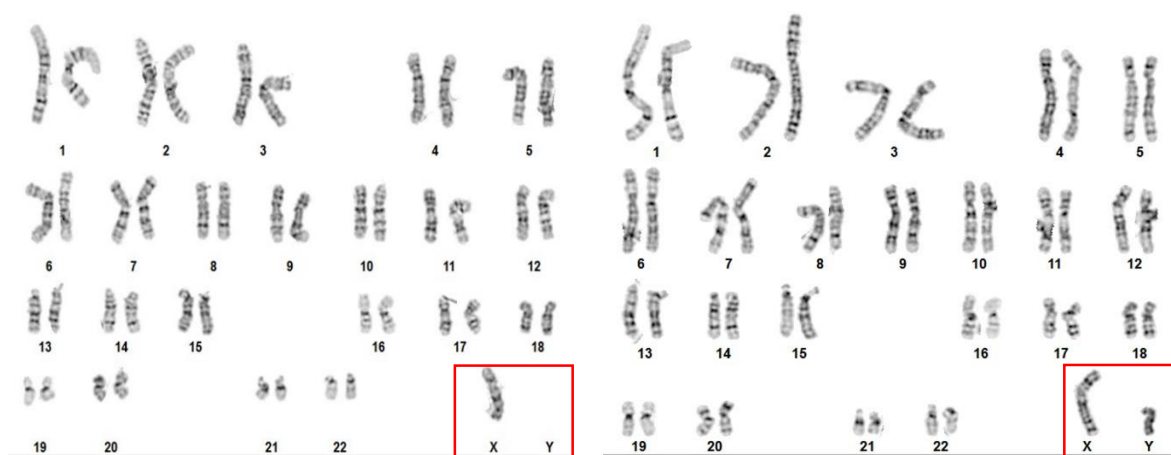


Figura 33. **Cariotip mozaic 45,X[3]/46,XY[12] al pacientului cu vârsta 46 ani**  
Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 30; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivel de rezoluție al benzilor: 550.

Diagnosticul stabilit: în urma evaluării istoricului și fenotipului a fost presupus diagnosticul de infertilitate primară. Cauza infertilității la pacientul descris a fost stabilită în urma examenului citogenetic, care a prezentat un cariotip 45,X/46,XY definit ca disgenezie gonadică mixtă [81, 82]. În organismul pacientului cu mozaicismul 45,X/46,XY, există două linii celulare, în 20% de celule s-a identificat cariotipul 45,X (monosomie X) și 80% linie celulară masculin normală cu 46,XY, ceea și ce argumentează fenotipul masculin, aparent, normal. Motivul pentru care a fost indicat cariotipul fiind spermograma sever afectată – azoospermia, dar care s-a diagnosticat la o vârstă de 46 ani. Azoospermia în mozaicismul 45,X/46,XY poate fi explicată de pierderea cromozomului Y în unele celule embrionare, determinată, foarte probabil, de deleții în regiunea AZF, care poate induce instabilitatea cromozomilor și erori în disjuncția cromozomilor în mitozele postzigotice [128]. Testul multiplex PCR în cazul prezentat nu a prezentat deleții ale cromozomului Y și, astfel, ipoteza sus menționată nu explică monosomia X la pacientul descris. Mozaicismul citogenetic și azoospermia cazului discutat ar putea fi explicate de altă ipoteza - mutațiile genelor determinante ale testiculelor, cum ar fi gena WT1 (11p), gena DAX1 (Xp21.3) și gena testatinei (20p11.2) pot juca un rol în eșecul gonadal la acești bărbați [80].

Mozaicismul 45,X/46,XY, denumit și disgenezia gonadică mixtă, este o aneuploidie rară a cromozomilor sexuali cu o prevalență de, aproximativ, 1 din 15.000 de nou-născuți [50, 128, 129]. Fenotipul pacienților cu asemenea afecțiune este extrem de variabil de la ambiguitate sexuală, genitale preponderent feminine, până la fenotip normal. Forma mosaică 45,X/46,XY poate fi diagnosticată și la persoanele de sex feminin cu disgenezie gonadală, și la persoanele de sex masculin cu disgenezie gonadală mixtă, și în cazurile cu pseudohermafroditism masculin, și la

bărbați aparent normali [50]. Variațiile fenotipice la persoanele cu cariotipul 45,X/46,XY pot corela cu gradul de mozaicism din somatic și gonadal, raportul dintre numărul de celule 45,X vs 46,XY [81, 82]. Prin urmare, fenotipul acestui grup de pacienți este foarte polimorf, fiindcă există două linii celulare distribuite diferit, celule fără Y și gene masculinizante și celule cu cromozomul Y și gene masculinizante. Subiecții cu mozaicismul 45,X/46,XY care prezintă o formă cu fenotip masculin, aparent, normal alcătuiesc un subgrup rar al acestui cariotip. Acești subiecți prezintă, de obicei, infertilitate și sunt diagnosticați pe baza rezultatelor analizei cariotipului în timpul evaluării azoospermiei sau a oligospermiei severe [80, 130, 131]. Acest fenomen se observă la cazul descris care nu a prezentat semne clinice sugestive pentru a suspecta o anomalie cromozomială. Motivul pentru care a fost indicat cariotipul fiind spermograma sever afectată și, respectiv, infertilitatea.

În 60% de cazuri s-a raportat că persoanele cu mozaicul 45,X/46,XY pot prezenta în copilărie ambiguitatea sexuală, pe o parte – poate fi găsit un testicul inghinal cu funcție endocrină limitată, iar pe cealaltă parte – un cordon gonadal disgenetic cu persistența derivatelor mulleriene; gonadele și cordoanele gonadale disgenice au risc crescut de malignizare; genitalele externe au fenotip variabil, predominant feminin; în alte cazuri se poate constata o virilizare suficientă pentru a încadra copilul în sexul masculin, care în perioada adultă se poate manifesta prin hipogonadism, statură joasă și infertilitate [153].

Datele prezentate pot explica de ce în unele cazuri bărbații cu mozaicul 45,X/46,XY și proporția/repartizarea celulelor normale predominantă în țesutul gonadal, pot beneficia de TRA pentru a obține spermatozoizi; totodată necesită a fi evaluat riscul de transmitere a unor defecte genetice descendenților, situație ce necesită consiliere genetică și diagnostic prenatal [132].

#### **4.2.5. Variații structurale microscopice ale cromozomului Y**

Prin tehnici citogenetice, au fost identificate două cazuri cu variații structurale ale cromozomului Y: 46,X,del(Y)(q11.21) ( $Y \leq 21$ ) și 46,XYqh+ ( $Y \geq 18$ ).

Delețiile cromozomului Y reprezintă a doua cauză genetică a deficienței de spermatogeneză la bărbații infertili după sindromul Klinefelter [133]. Prevalența delețiilor cromozomului Y este estimată la, aproximativ, 1:2000 până la 1:3000 din bărbați. În acest studiu, s-a depistat la 1 din 96 de bărbați azoospermici cu o prevalență de 1,04% (Tabelul 30). La pacientul cu vârsta de 36 ani a fost identificat un cariotip masculin anormal - 46,X,del(Y)(q11.21), având o modificare structurală neechilibrată (deleție), ce implică o porțiune de la nivelul brațului lung al cromozomului Y (regiunea Yq11.21-qter), în toate celulele analizate (Figura 34). Deleția în regiunea cromozomului Y a fost confirmată și prin examenul multiplex PCR, care a relatat lipsa markerilor specifici pentru



regiunea AZFb: SY 127, SY 134, sY117, sY143 și regiunea AZFc: SY 254, SY 255, sY153, sY158.

Variantele polimorfe ale cromozomului Y (Yqh+) sunt menționate în câteva studii privind infertilitatea masculină, în principal, la bărbații cu azoospermie și oligozoospermie severă [130]. În studiul actual, polimorfismul cromozomial Y a fost prezentat de 46,XYqh+(Y $\geq$ 18) (1 caz) cu o prevalență de 1,04% din întregul eșantion (n=96) (Figura 35). Yqh+ reprezintă o variație a regiunii de heterocromatină constitutivă din cromozomul Y, ce nu poate explica direct tulburările spermatogenezei. Acest subiect devine din ce în ce mai controversat datorită rolului heterocromatinei, fără a avea o relevanță medicală pe deplin elucidată. Y( $\geq$ 18) rezultă din duplicarea excesivă a secvenței DY21 tipice Y în regiunea heterocromatinei și poate fi asociat cu erori în timpul mitozei, dereglări în expresia genelor și diferențierea celulară; poate duce la probleme de gestație. Contrar, în cazurile Y( $\leq$ 21), similară cu cromozomul Y normal în morfologie și benzi, precum și în dimensiune, pot lipsi genele asociate cu spermatogeneza [111]. În cazul pacientului cu 46,X,del(Y)(q11.21) - Y( $\leq$ 21), au fost deletate genele din regiunea AZFb+c (confirmate prin multiplexPCR).



Figura 34. **Cariotip 46,Xdel(Y)(q11.21) (Y $\leq$ 21) al pacientului cu vârsta 36 ani**  
Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 30; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivel de rezoluție al benzilor: 600 – 650

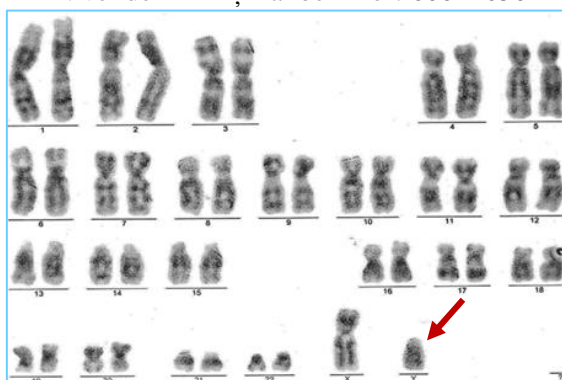


Figura 35. **Cariotip 46,XYqh+(Y $\geq$ 18) al pacientului cu vârsta 30 ani**  
Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5;  
Nivel de rezoluție al benzilor: 550

#### 4.2.6. Variații structurale ale cromozomilor autozomi

Testarea citogenetică a pacienților cu azoospermie a scos în evidență variații în structura unor cromozomi autozomi: 46,XY, t(1;19)(23.2q;q12.4); 46,XY,der(5),t(9;5); 45,XY,rob(13/14); 46,XY,inv(9)(p11q12); 46,XY,inv(9)(p13.21); 46,XY,15ps+; 46,XY,22sts; 46,XY, fra(17)(p12).

În studiile de specialitate, sunt descrise variații ale cromozomilor autozomi la pacienții cu infertilitate, care frecvent nu se exprimă prin modificări fenotipice. În studiul actual, din numărul total (n=96) al bărbaților cu azoospermie se regăsesc în 8,3% (n=8) cazuri (Tabelul 35).

Tabelul 35. **Repartizarea anomaliilor cromozomiale autozomale la bărbații cu azoospermie conform valorilor FSH**

Anomalii autozomale	FSH (mIU/ml)							
	Micșorat <2		Norma 2–10		Mărit >10		Total	
	n=10	%	n=58	%	n=28	%	n=96	%
Total	2	20,0	5	8,6	1	3,6	8	8,3
<b>Translocații reciproce</b>							2	2,1
46,XY, t(1;19)(23.2q;q12.4)	1	10,0						
46,XY,der(5),t(9;5)			1	1,7				
<b>Translocații robertsoniene</b>							1	1,0
45,XY,rob(13/14)			1	1,7				
<b>Inversii</b>							2	2,1
46,XY,inv(9)(p11q12)			1	1,7				
46,XY,inv(9)(p13.21)	1	10,0						
<b>Polimorfisme crs.</b>							2	2,1
46,XY,15ps+					1	3,6		
46,XY,22sts			1	1,7				
<b>Situs Fragil</b>							1	1,0
46,XY, fra(17)(p12)			1	1,7				

Cele mai frecvente anomalii cromozomiale autozomale depistate au fost rearanjamentele cromozomiale echilibrate în 5 cazuri. Translocațiile sunt cele mai frecvente anomalii cromozomiale echilibrate. În studiul curent, au fost depistate în 3,1% (n=3) din lotul total (n=96). Translocațiile cromozomiale echilibrate implică rupturi în doi cromozomi și rearanjarea anormală a fragmentelor cromozomiale care conduc la transpunerea materialului genetic de la un cromozom la altul fără pierderea materialului genetic, ceea ce explică că în majoritatea cazurilor purtătorii cu translocații prezintă un fenotip normal. Azoospermia se datorează, în mare parte, faptului că, unul dintre punctele de ruptură ar putea întrerupe o gena ce controlează, nemijlocit, spermatogeneza și poate conduce ulterior la blocarea spermatogenezei sau spermatogeneză incompletă. Translocațiile pot fi de două tipuri reciproce și robertsoniene. Translocațiile reciproce sunt anomalii cromozomiale în care doi cromozomi neomologi în Profaza I a meiozei conjugă anormal ce poate face dificilă disjuncția cromozomilor și gametogeneza poate fi blocată [129].

În cercetarea actuală, din 96 bărbați cu azoospermie translocații simple echilibrate au fost depistate în 2,1% (n=2) cazuri- t(1;19) și t(9;5) (Figura 37, Figura 36). Într-un caz, a fost identificat o translocație robertsoniană, cu 45 de cromozomi, implicând brațele lungi ale unui cromozom din perechea 13 și unuia din perechea 14, în toate celulele analizate rob(13/14) (Figura 38) Conform surselor de specialitate, această translocație între cromozomii 13 și 14 este cea mai răspândită, urmată de translocația 14 și 21.

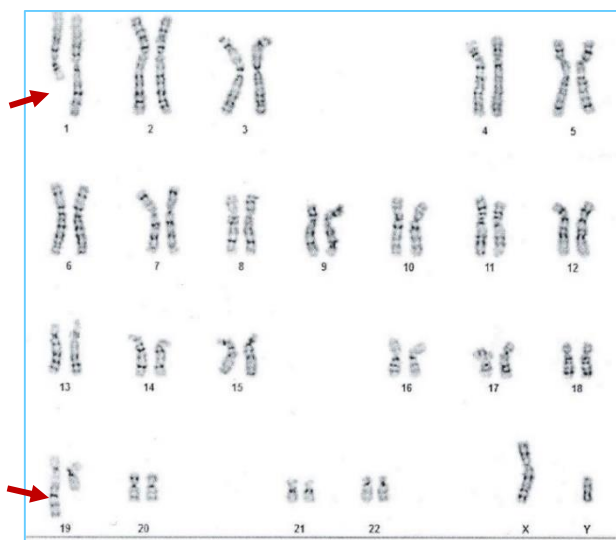


Figura 37. **Cariotip 46,XY,t(1;19)(q23.2;q13.4) al pacientului cu vârsta 35 ani**  
(Metafaze numărate: 33; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivelul de rezoluție al benzilor: 650)

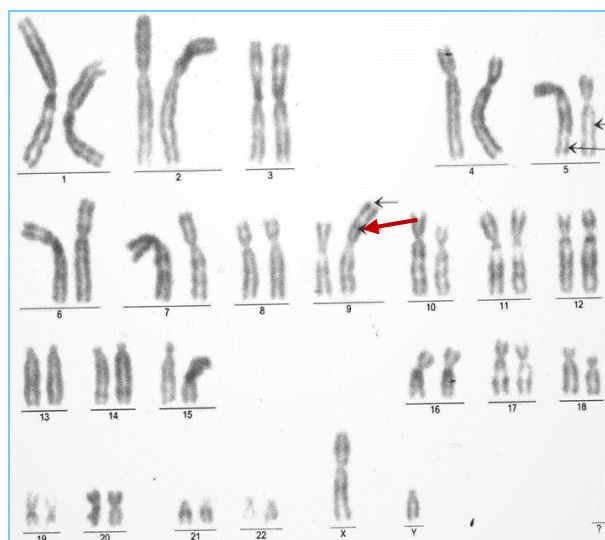


Figura 36. **Cariotip 46,XY,der(5),t(9;5) al pacientului cu vârsta 29 ani**  
(Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5;  
Nivelul de rezoluție al benzilor: 550)



Figura 38. **Cariotip 45,XY,rob(13;14)(q10;q10) al pacientului cu vârsta 31 ani**  
Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 33; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivel de rezoluție al benzilor: 600

Translocațiile care implică cromozomii 13 și 14, în special, se găsesc, în aproximativ, 1 din 1000 de nou-născuți [129]. Aceste modificări structurale pot avea drept consecință avorturi spontane în cuplu. De asemenea, exista riscul de a transmite descendenților cromozomii derivativi neechilibrați, și, implicit, un risc crescut de anomalii congenitale la aceștia. Se recomandă sfat

genetic și diagnostic prenatal la o viitoare sarcină în cuplu. Se recomandă testarea rudelor de gradul I, care ar putea fi purtătoare ale aceleiași anomalii și, deci, s-ar supune acelorași riscuri.

Inversiile cromozomiale sunt cele mai frecvente rearanjamente cromozomiale echilibrate după translocații. Acest fapt se atestă și în studiul actual, astfel, inversiile s-au identificat în 2,1% (n=2) cazuri din numărul total al bărbaților cu azoospermie (Tabelul 35, Figura 39, Figura 40). La ambii pacienți a fost identificată inversie pericentrică ce implică ambele brațe ale unui cromozom din perechea 9, în toate celulele analizate. Impactul inversării pericentrice asupra cromozomului 9 uman este controversat în literatură. Mai multe studii au susținut ideea ca fiind variație normală, deoarece frecvența nu a arătat nici o diferență între populația generală și cuplurile infertile [99]. În timp ce alte studii au relatat că inversiile, deși nu se asociază, de regulă, cu modificări fenotipice la purtători, dar, ca și în cazul translocațiilor, prezintă riscuri asociate pentru pierderi de sarcină, copii cu anomalii genetice, descendenți cu probleme de infertilitate. Probabilitatea ca purtătorii de inversii să producă gameți anormali ca urmare a încrucișării meiotice variază de la 1% la 10% [99]. În urma recombinării cromozomilor omologi, în cercul de inversare, va avea ca rezultat 4 tipuri de gameți, dintre care unul este normal, unul este inversat, iar ceilalți doi sunt, parțial, duplicați sau deletați [134].

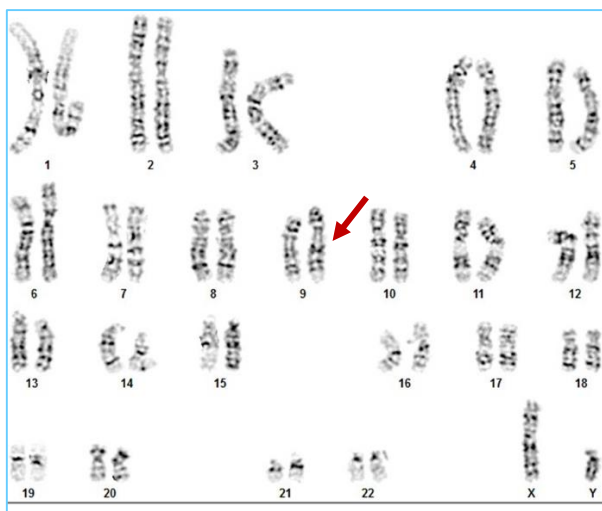


Figura 39. **Cariotip 46,XY,inv(9)(p11q12) al pacientului cu vârsta 35 ani**  
(Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivelul de rezoluție al benzilor: 550 -570)



Figura 40. **Cariotip 46,XY,inv(9)(p13q21) al pacientului cu vârsta 31 ani**  
(Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivelul de rezoluție al benzilor: 550)

Polimorfismele cromozomiale rămân, în continuare, unul dintre cele mai interesante subiecte în genetică. Aceste variații în heterocromatină au fost considerate normale pentru a perioadă lungă de timp. În ultimii ani, tot mai multe studii arată o incidență crescută a polimorfismului cromozomial în cuplurile infertile. Se pare că, există o relație între polimorfismul cromozomial și scăderea fertilității. Studiile anterioare indică faptul că polimorfismele

cromozomiale pot provoca infertilitate [135]. În studiul actual, au fost identificate în 2,1% (n=2) cazuri din 96 bărbați cu azoospermie. Un caz având o regiune satelitară mărită la nivelul brațului scurt al unuia dintre cromozomii din perechea 15 (15ps+) și altul din perechea cromozomului 21 (21ps+), în toate celulele analizate (Figura 41, Figura 42).

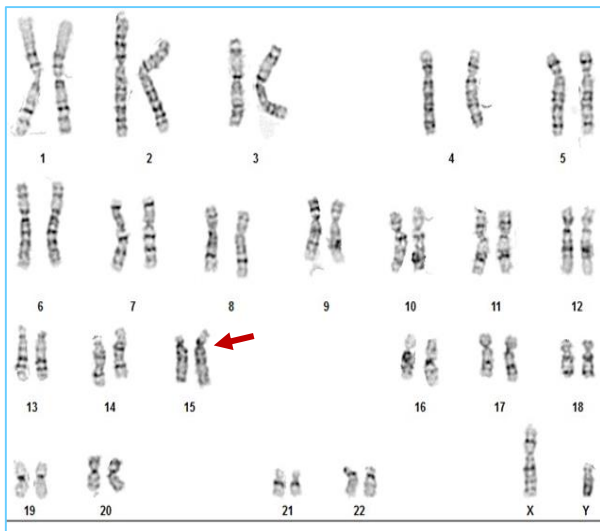


Figura 41. **Cariotip 46,XY,15ps+** al pacientului cu vârsta 33 ani  
(Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5;  
Nivelul de rezoluție al benzilor: 550)

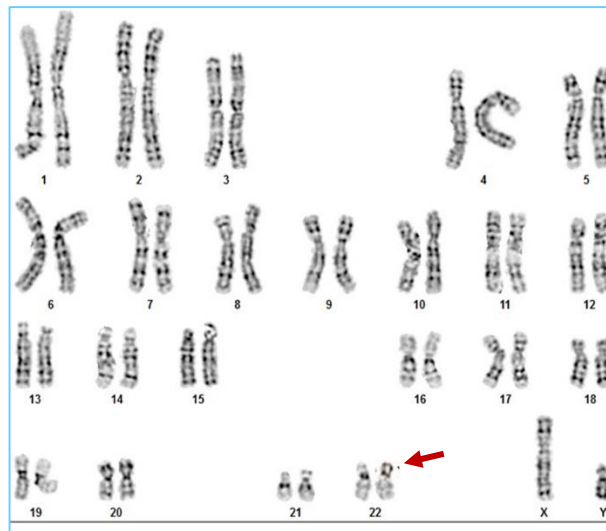


Figura 42. **Cariotip 46,XY,22ps+** al pacientului cu vârsta 32 ani  
(Metafaze numărate: 15; Metafaze cariotipate: 5;  
Nivelul de rezoluție al benzilor: 750)

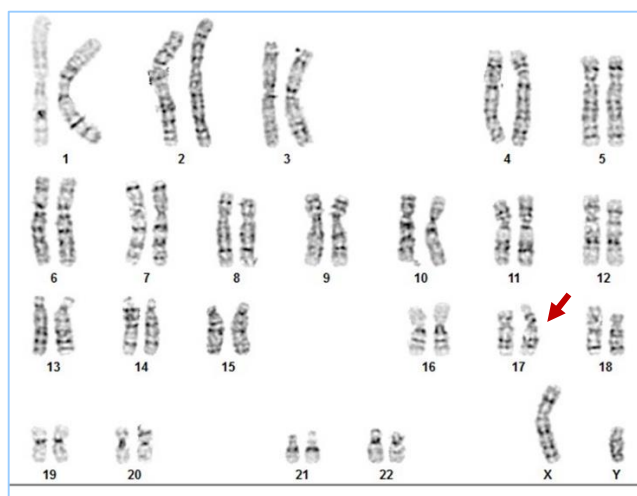


Figura 43. **Cariotip 46,XY, fra(17)(p12)** al pacientului cu vârsta 36 ani  
Tehnica de bandare cromozomială: GTG; Metafaze numărate: 30; Metafaze cariotipate: 10;  
Nivel de rezoluție al benzilor: 600

Într-un caz, la un bărbat azoospermic cu vârsta de 36 ani, a fost depistat un cariotip masculin cu 46 cromozomi, prezentând un situs fragil la nivelul brațului scurt al unuia dintre cromozomii din perechea 17 (regiunea 17p12), în toate celulele analizate (Figura 43). În timp ce situsul fragil de pe cromozomul X, fra(X)(q27.3) este asociat cu o formă de retard mintal, semnificația practică a celorlalte situsuri fragile autozomale nu au fost încă pe deplin elucidate.

### 4.3. Variații în genele AZF și gena CFTR la pacienții cu azoospermie testați molecular-genetic

Toți pacienții (n=96) cu azoospermie au fost testați molecular-genetic pentru analiza variațiilor în genele din regiunea AZF a cromozomului Y (multiplex PCR) și pentru mutațiile delF508 și G542X ale genei CFTR (PCR).

#### 4.3.1. Microdeleții ale cromozomului Y la bărbații cu azoospermie

În cercetarea actuală, au fost diagnosticate în 25% (24/96) variații cromozomiale, dintre care asociate Sindromului Klinefelter 11,5% (11/96). La analiza molecular-genetică în 10,4% (10/96) au fost depistate delețiile regiunii AZF ale cromozomului Y (Figura 44). Conform studiilor de specialitate, microdelețiile cromozomului Y în regiunea AZF reprezintă a doua cauză genetică de infertilitate masculină, după anomaliile cromozomiale și în special SK, date confirmate în acest studiu [110, 136].

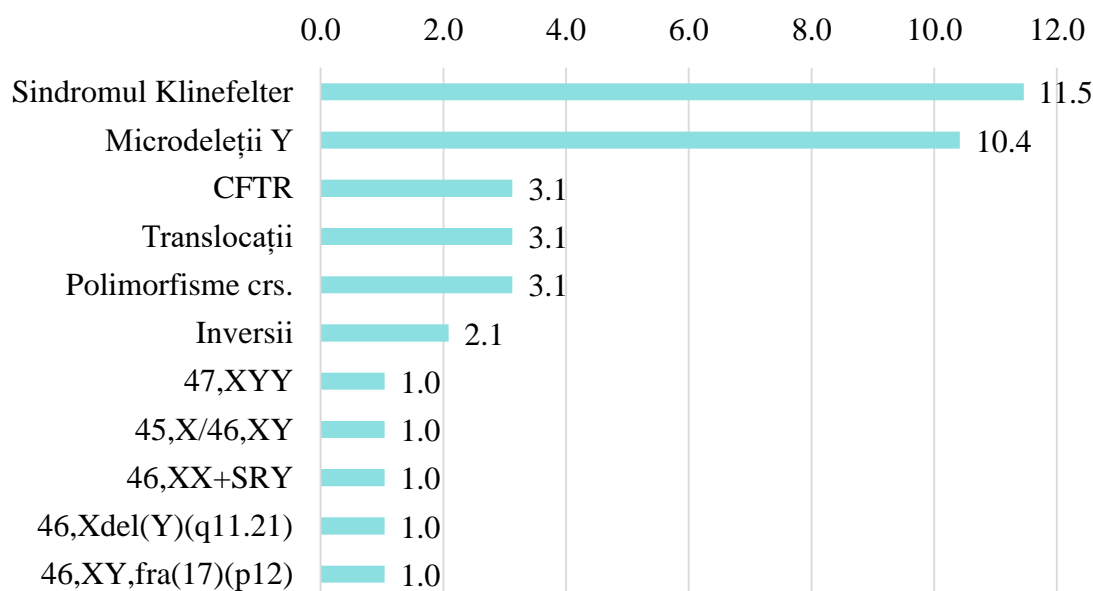


Figura 44. Prevalența microdelețiilor cromozomului Y în raport cu alte cauze genetice diagnosticate la bărbații cu azoospermie

Microdelețiile Y sunt mai frecvente la bărbații infertili decât în populația generală, se găsesc la 3–5% dintre pacienții cu oligozoospermie și 6–16% dintre pacienții cu azoospermie. Incidența înaltă a microdelețiilor Y în rândul bărbaților cu spermograma sever afectată este datorată, nemijlocit, delețiilor în regiunea AZF ce afectează genele care controlează spermatogeneza [137].

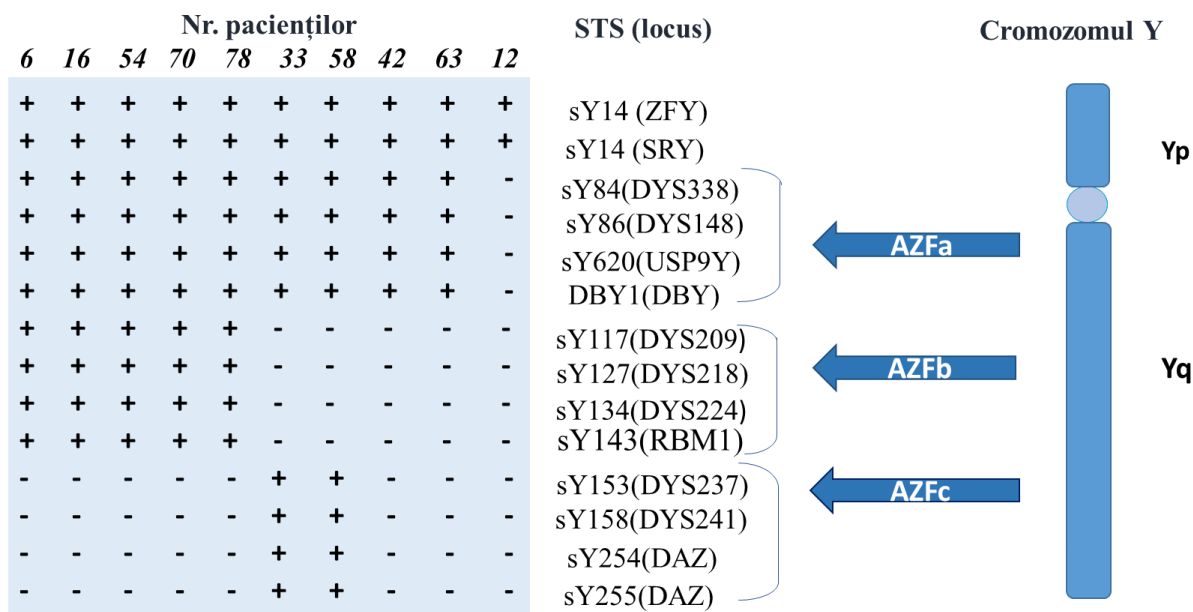


Figura 45. Diagrama schematică care ilustrează diferite tipuri de deleție a markerilor STS la pacienții cu AZF deleții. +: produs PCR prezent; -: produs PCR lipsă

Din numărul total (n=10) al pacienților cu microdeleții Y, cele mai frecvente sunt microdelețiile locusului AZFc, markerii lipsă au fost sY153, sY158, sY254 și sY255. Deleții izolate ale acestui locus au fost diagnosticate în 50% (n=5) din (n=10) pacienții azoospermici. În 20% (n=2) au fost depistați cu deleția regiunii AZFb, markerii lipsă fiind sY117, sY127, sY134, sY143. Deleții care afectează atât loci AZFb, cât și AZFc au fost identificate în 20% (n=2). Într-un singur caz, 10 % (n=1) au fost detectate microdeleții în fiecare regiune a AZFa-sY84, sY86, sY620, DBY1; AZFb-s Y117, sY127, sY134, sY143; AZFc-sY153, sY158 sY254, sY255; și prezența genei SRY (regiunea care determină sexul pe Y). Deleții complete izolate ale regiunii AZFa nu au fost detectate la niciunul dintre pacienți (Tabelul 36, Figura 45, Figura 46)

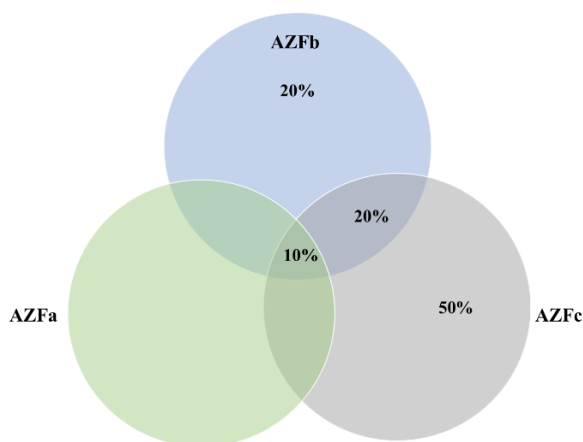


Figura 46. Diagrama Venn reprezintă prevalența diferitor tipuri de deleții în regiunea AZF. AZFc deleții sunt implicate în 50% (5/10) din nr. total al delețiilor respectiv. AZFb deleții în 20% (2/10), deleții combinate ce includ AZFb și AZFc sunt la fel în 20%. Deleții în toate regiunile AZFa, AZFb și AZFc în 10% (1/10).

Dintre numărul total al pacienților cu azoospermie (n=96), deleția regiunii AZFc a fost identificată în 5,2% (5/96), urmată de AZFb, 2,08% (2/96), AZFbc, 2,08% (2/96), AZFabc, 1,0% (1/96). Deleția AZFc a fost cel mai frecvent model de microdeleții AZF la pacienții cu azoospermie cu o prevalență de, aproximativ, 12% și oligozoospermie severă 6%; această constatare este în concordanță cu rapoartele anterioare [138]. Din numărul total de deleții, deleția în regiunea AFZc la bărbații azoospermici se întâlnește în, aproximativ, (60 - 70%), urmată de delețiile din regiunea AZFbc (22%), AZFb (15%) și AZFa (3%) (Figura 46).

**Tabelul 36. Manifestările fenotipice la pacienții cu microdeleții ale cromozomului Y**

Nr. pacienți	6	16	54	70	78	33	58	42	63	12	
Vârsta (ani)	28	32	36	31	29	34	30	34	36	40	33,0 ±3,7
Infertilitate (ani)	2	7	8	2	5	3	3	3	8	9	5,0 ±2,8
Boli copilărie		√		√				√		√	40,0%
Interv. chirurgicale										√	10,0%
Infecții urogenitale					√						10,0%
Expun. gonadotoxice							√		√	√	30,0%
Traumatisme genitale				√		√					20,0%
Fumat		√	√			√		√	√		50,0%
Istoric an. congenitale			√								10,0%
Abstența (zile)	7	6	6	5	4	5	3	3	6	4	4,9 ±1,4
Volum (ml)	3,7	2,5	2,5	2,5	3,8	1,5	3,3	3,3	1,5	2,4	2,7 ±9,8
pH	7,1	8,0	8,0	7,8	7,6	8,2	7,8	8,0	7,1	7,7	7,7 ±0,4
Leucocite (mln/ml)	0,1	0,3	0,3	0,7	1,0	0,0	0,1	0,6	0,0	1,0	0,4 ±0,3
FSH (mIU/ml)	5,2	3,4	12,2	9,9	7,3	5,7	1,3	2,5	6,9	9,8	6,4 ±3,5
LH (mIU/ml)	↔	↔	↑	↔	↔	↔	↓	↔	↔	↔	
LH (mIU/ml)	8,1	2,5	6,9	6,7	7,5	12,0	2,5	3,5	8,4	7,7	6,2 ±3,2
Prolactina (ng/ml)	25,0	14,4	12,8	12,1	12,0	13,1	13,0	12,0	8,2	7,0	13,0 ±4,8
Testosteron (ng/ml)	↑	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	
Testosteron (ng/ml)	3,2	2,6	1,2	5,6	2,0	5,4	2,5	3,5	3,0	4,1	3,3 ±1,4
Testosteron (ng/ml)	↔	↔	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	
46,XY	√	√	√	√	√	√	√	√			80,0%
46,XX+SR <sub>Y</sub>										√	10,0%
46,Xdel(Y)(q11.21)									√		10,0%
Tipul delAZF	c	c	c	c	c	b	b	bc	bc	abc	
Biopsie testiculară	√			√	√						30,0%
Lipsa spermatozoizi	√			√	√						

Conform datelor din literatură, deleții în regiunea AZF se întâlnesc la 1 din 8 bărbați azoospermici cu cariotip normal [109, 136]. Același rezultat a fost obținut și în cercetarea actuală



din 10 pacienți cu deleții 8 pacienți au prezentat cariotip normal (46,XY) și 2 pacienți au avut modificări în cariotip 1 pacient 46,XX+ SRY și 1 pacient 46,Xdel(Y)(q11.21) (Tabelul 36).

Cele mai multe dintre aceste mutații sunt de novo, având în vedere modelul de moștenire al cromozomului Y [139] Delețiile diferitelor regiuni sunt asociate cu capacități diferite pentru producția de spermatozoizi variind de la oligozoospermie severă, azoospermie și sindromul Celulelor Sertoli [140].

**Tabelul 37. Microdeleții ale cromozomului Y la bărbații cu azoospermie corelate la valorile FSH**

Rezultate molecular-genetice	FSH mIU/ml							
	Micșorat <2		Norma 2–10		Mărit >10		Total	
	n=10	%	n=58	%	n= 28	%	n=96	%
deleție în regiunea AZF	1	10,0	8	13,8	1	3,6	10	10,4
deleție în regiunea AZFa, b, c			1	12,5			1	10,0
deleție în regiunea AZFb	1	100	1	12,5			2	20,0
deleție în regiunea AZFb și c			2	25,0			2	20,0
deleție în regiunea AZFc			4	50,0	1	100	5	50,0

Regiunea AZFc implică 12 gene și unități de transcripție, fiecare se prezintă într-un număr variabil de exemplare, rezultând un total de 32 de exemplare. Bărbații cu deleții AZFc prezintă cel mai variabil fenotip variind de la azoospermie completă până la oligozoospermie ușoară. Totuși, la majoritatea purtătorilor cu AZFc deleții, spermatogeneza este finalizată, dar pe o scară redusă, de obicei, mai puțin de 2 milioane/ml rezultând oligozoospermie severă [104]. În timp ce delețiile AZFc sunt mai puțin patogene, conform studiilor de caz prospective de urmărire, se observă că într-un subgrup de bărbați cu microdeleții AZFc există o scădere progresivă a numărului de spermatozoizi, unde pacienții progresează de la oligozoospermie la forma sa severă sau chiar devin cu azoospermie. Acest lucru implică un efect de deteriorare temporară a delețiilor AZFc asupra spermatogenezei, care duce la înrăutățirea numărului de spermatozoizi și calitate. Astfel, deși bărbații cu deleții AZFc pot prezenta spermatozoizi în ejaculat, trebuie de luat în considerație posibilitatea de a se oferi crioconservare a spermei pentru a preveni tehnici invazive precum TESA în etapele ulterioare ale vieții pentru recuperarea spermei [141]. Bărbații cu deleție AZFc prezintă un prognostic favorabil pentru recuperarea spermei prin tehnica microTESE. Conform rapoartelor, din multiple studii la pacienții cu deleții AZFc, spermatozoizii maturi sunt obținuți în, aproximativ, 50% prin tehnica microTESE, în ciuda ratelor reduse de fertilizare și a scorurilor embrionare mai slabe după ICSI [142]. În studiul actual, biopsia testiculară prin tehnica TESE a fost efectuată la 3 pacienți cu deleție AZFc pentru recuperarea spermei, cu toate acestea, nu am găsit la nici un

pacient, spermatozoizi maturi suficienți pentru ICSI (Tabelul 36). Unul din motivele probabile fiind tehnica care a fost utilizată (TESE), șansele de recuperare la acești pacienți sunt mult mai mari, dacă se utilizează microTESE [122].

Majoritatea bărbaților cu microdeleții Yq necesită ICSI pentru a le depăși infertilitatea, deoarece toți spermatozoizii de la bărbații cu deleții Y prezintă aceeași microdeleție, descendenții de sex masculin ICSI ai bărbaților cu microdeleții Yq vor avea, de asemenea, deleția și vor avea afectarea spermatogenezei la vârsta adultă. Deși severitatea eșecului spermatogen nu poate fi prezisă, crioconservarea preventivă a spermei la fii la o vârstă, relativ, fragedă ar trebui recomandată părinților [91].

În regiunea AZFc există mai multe gene de fertilitate candidate, care conține 8 familii de gene în mai multe copii, inclusiv: BPY2 (Basic protein on Y chromosome 2), două copii ale CDY1 (CDY1a și CDY1b; chromodomain protein, Y chromosome 1), patru copii ale familiei de gene DAZ (deleted in azoospermia gene family), GOLGA2LY (Golgi Autoantigen, Golgin Subfamily a2 Like Y), CSPG4LY (Chondroitin sulfat proteoglycan 4 Like Y), TTY3.1, TTY4.1 și TTY7.1 (testis-specific transcript) [136, 143, 144].

**Tabelul 38. Markerii cromozomului Y la bărbații cu azoospermie, corelate la valorile FSH**

lipsa markerului	FSH							
	Micșorat <2		Norma 2-10		Mărit >10		Total	
	n=10	%	n=58	%	n=28	%	n=96	%
SY14							0	0
SY14 SRY							0	0
sY84 – gena DYS 388			1	1,7			1	1,04
sY86 – gena DYS148			1	1,7			1	1,04
DBY1 – gena DBY			1	1,7			1	1,04
sY620 – gena USP9Y			1	1,7			1	1,04
sY127 – gena DYS218	1	10,0	4	6,9			5	5,2
sY134 – gena DYS224	1	10,0	4	6,9			5	5,2
sY117 – gena DYS209	1	10,0	4	6,9			5	5,2
SY143 – gena RBM1	1	10,0	4	6,9			5	5,2
sY153 – gena DAZ			7	12,1	1	3,6	8	8,3
sY158 – gena DAZ			7	12,1	1	3,6	8	8,3
sY254 – gena DYS237			7	12,1	1	3,6	8	8,3
sY255 – gena DYS241			7	12,1	1	3,6	8	8,3

În 8,3% au lipsit markerii sY153 și sY158, sY254 și sY255, ce corespund regiunii AZFc care include familia de gene DAZ (Deleted in Azoospermia) și gena DYS (Tabelul 38). Încă nu este clar de ce deleția AZFc este atât de frecventă, probabil, ar putea fi cauzată de secvențele repetitive din această regiune. În timp ce copiile genei DAZ sunt deletate la bărbații cu deleții

complete și parțiale AZFc, au fost raportate cazuri când copiile individuale DAZ pot fi deletate sau duplicate chiar și în absența deleției complete. În același timp, delețiile/duplicațiile copiei genei DAZ sunt raportate chiar și la bărbații fertili. Este demonstrat că, delețiile copiilor genelor DAZ și CDY1 au ca rezultat reducerea numărului și motilității spermatozoidelor. Aceste observații subliniază importanța genelor DAZ în spermatogeneza. Funcțional, mecanismul prin care gena DAZ ar regla spermatogeneza rămâne neexplorat, se suspectează să realizeze acest mecanism prin reglementarea transcripției și sintezei ARN [138].

AZFa găzduiește 2 copii ale genelor care codifică proteinele USP9Y (Ubiquitin Specific Protease 9 Y) și DBY (Dead Body Y). Deleția completă a regiunii AZFa este asociată cu azoospermie și cu Sindromul Celulelor Sertoli - fără focare testiculare de spermatozoizi (SCOS) [143].

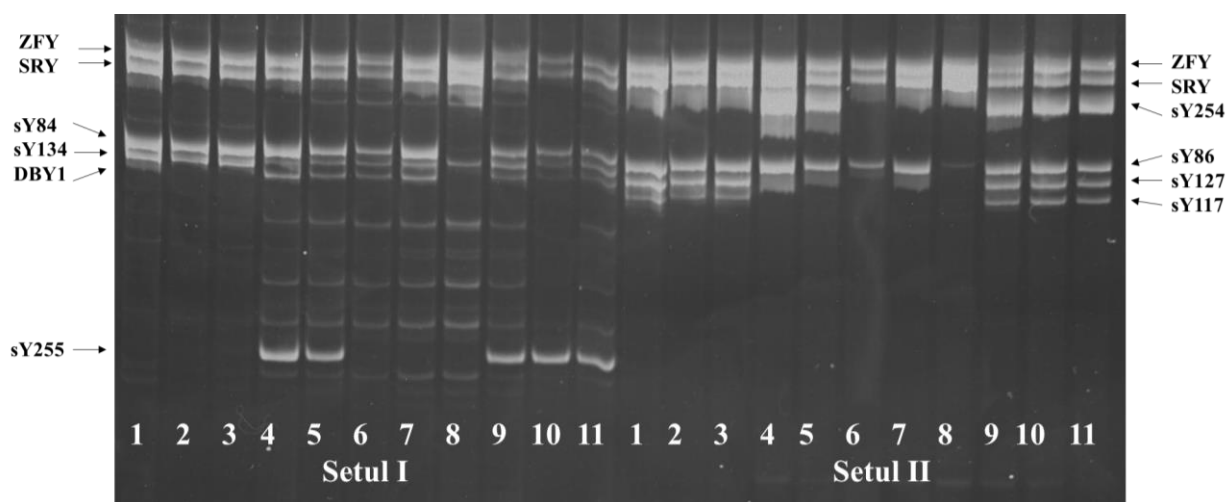


Figura 47. Rezultatul electroforezei pentru AZF deleții: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7- pacienți cu deleții: 8; 9; 10- control masculin

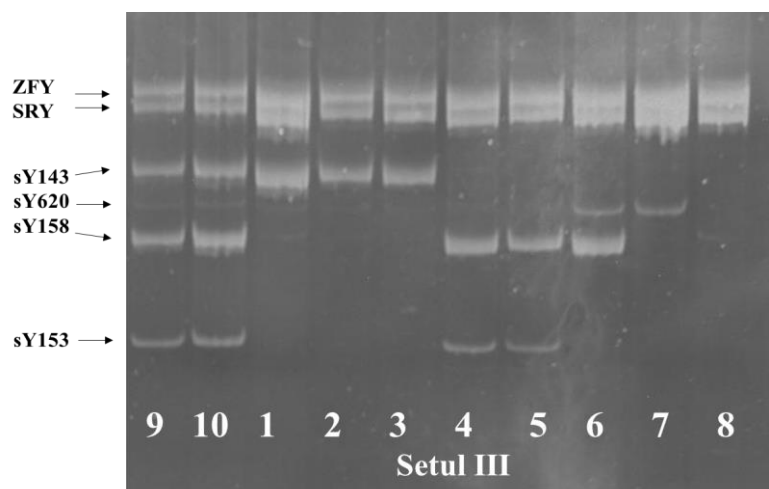


Figura 48. Rezultatul electroforezei pentru AZF deleții: 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7- pacienți cu deleții: 8; 9; 10- control masculin

Tabelul 39. **Rezultatele pacienților de la electroforeză pentru microdelețiile Y**

Nr.	Nr. pacient	sY84	sY134	DBY1	sY255	sY254	sY86	sY127	sY117	sY143	sY620	SY158	sY153
1	16	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
2	54	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
3	70	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
4	33	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
5	35	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
6	42	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
7	63	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
8	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	XY1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	XY2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	XY3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Deleția completă a AZFb apare cu o frecvență de 1–5% din toate microdelețiile cromozomului Y. În acest studiu, deleția completă AZFb a fost depistată la 2 pacienți, markerii lipsă fiind sY117, sY127, sY134, sY143 (Figura 45). Deleția AZFb poate fi asociată cu oprirea dezvoltării celulelor germinale în stadiul de pahiten rezultând azoospermie sau SCOS [136].

#### 4.3.2. Mutații în gena CFTR la bărbații cu azoospermie

În urma evaluării molecular genetice a mutațiilor delF508 și G542X ale genei CFTR la pacienții (n=96) cu azoospermie, în 3,1% (n=3) cazuri au fost depistați ca purtători ai mutației în gena CFTR- *N/ΔF508* (Figura 49). Fibroza chistică (FC) este cea mai frecventă afecțiune autozomal recesivă, care afectează, aproximativ, 70.000 de oameni din întreaga lume caracteristică populației cauzaziene. Manifestările bolii sunt cauzate de defecte ale proteinei Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, determinate de mutații în gena CFTR. Mutația ΔF508 este cea mai frecventă, aproximativ, 50-80% [145].

Gena CFTR este un membru al super-familiei de gene codificatoare de proteine-pompe ATP-azice, care se extinde pe, aproximativ, 190 kb pe regiunea cromozomială 7q31.2 și conține 27 de exoni și 26 introni. Produsul genei CFTR este o proteină canal de ioni de clor de 1480 de aminoacizi [146].

Mutațiile din gena CFTR perturbă funcția canalelor de clor, împiedicându-le să regleze fluxul de ioni și apă prin membranele celulare. Ca rezultat, celulele din tractul genital masculin produc mucus de o consistență vâscoasă. Patogenitatea CBAVD (Absența congenitală bilaterală a canalului deferent) în FC poate apărea în timpul dezvoltării în uter, posibil, prin obstrucția tractului genital din cauza acumulării de secreții vâscoase, care duc la degenerarea canalului deferent [147].

Alelele care provoacă mutații în gena CFTR pot fi clasificate în două tipuri principale: (i) mutații „severe” în stare homozigotă/ disfuncția bialelică și manifestări multisistemice caracteristice FC; (ii) mutații „ușoare” heterozigote, fără manifestări caracteristice FC, dar frecvent cu CBAVD. Circa 33% dintre subiecții cu CBAVD de rasă europeană sunt heterozigoți pentru mutații în gena CFTR [104].

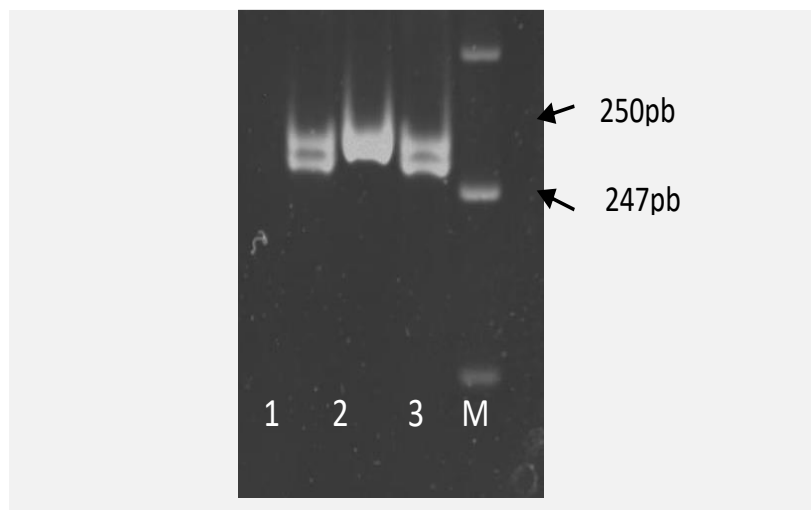


Figura 49. **Electroforeograma pentru mutația del F508 în gena CFTR**  
1, 3: bărbat heterozigot (N/delF508); 2: bărbat homozigot (N/N)

La toți pacienții heterozigoți cu alele N/ $\Delta$ F508, s-a efectuat biopsie testiculară, unde s-au identificat spermatozoizi pentru ICSI. Pentru cuplurile în care partenerul masculin are mutații în gena CFTR, testarea partenerului feminin și consilierea genetică sunt foarte importante înainte de TRA, pentru a estima riscurile și posibilele corelații genotip-fenotip. Astfel, pentru calcularea riscului de recurență la descendenți au fost, de asemenea, investigate soțiile lor, care au fost homozigote NN.

Toți (n=3) pacienții purtători de mutații  $\Delta$ F508, au prezentat absența bilaterală a vaselor deferente (CBAVD). CBAVD este o boală congenitală de dezvoltare (1:1000 bărbați) caracterizată prin lipsa ambelor canale deferente. Prevalența CBAVD la bărbații azoospermici este estimată la 4-17% și crește până la 25% în cazul azoospermiei obstructive [104]. Absența vaselor deferente este asimptomatică din punct de vedere clinic și atunci când CBAVD este singura manifestare la un pacient, atunci, în majoritatea cauzelor, găzduiește cel puțin o mutație a genei CFTR. Această afecțiune este cunoscută ca forma genitală a fibrozei și poate fi denumită FC-CBAVD [147].

#### 4.4. Consultul genetic în cuplurile infertile datorate azoospermiei în contextul reproducerii asistate

Azoospermia este cea mai severă cauză de infertilitate masculină în cuplu, bărbații azoospermici suferă de absența spermatozoidelor în ejaculat. De la introducerea ICSI a ovocitelor din anul 1993, folosind spermatozoizi testiculari și epididimali, a devenit o procedură de tratament de rutină pentru pacienții cu azoospermie ca factor de infertilitate masculină [148].

Confirmarea unui diagnostic clinic prin testare genetică poate conduce la un management medical personalizat. Simptomele clinice similare pot fi rezultatul diferitelor variații genetice. Mai exact, în situații clinice mai rare, evaluările genetice (consiliere și testare) pot contribui la identificarea specifică a bolii sau la confirmarea unui diagnostic suspect. Combinația dintre informații clinice detaliate furnizate și identificarea cauzei genetice va permite dezvoltarea unei strategii diagnostic-terapeutice personalizate [149–151]. Cele trei domenii principale de aplicare pentru care este necesară testarea genetică pentru a îmbunătăți medicina reproductivă sunt: identificarea cauzei infertilității, identificarea bolilor genetice transmisibile descendenților și optimizarea tehnicilor de reproducere asistată (Figura 50).

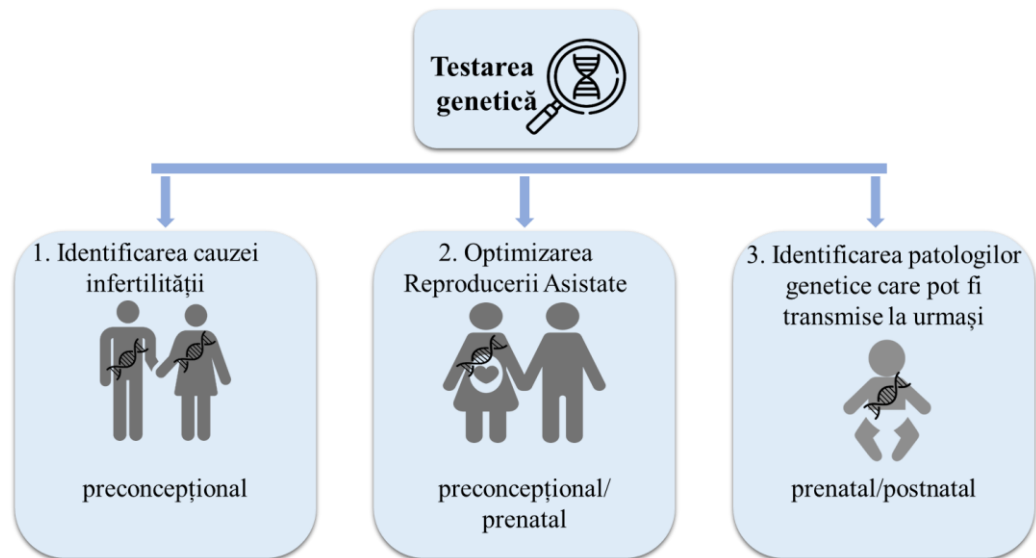


Figura 50. Domeniile principale de aplicare pentru care este necesară testarea genetică pentru a îmbunătăți medicina reproductivă

Consilierea și testarea genetică pot oferi cuplului infertil oportunitatea de a obține o explicație sau o mai bună înțelegere a pierderilor, deși poartă cu sine potențialul de diagnostic genetic sau informații care pot fi deranjante. Multe cupluri infertile, deciziile să continue cu teste genetice sau consiliere sunt influențate de experiențele anterioare de infertilitate, indicații medicale și acceptarea unei componente genetice a infertilității lor [152, 153].

**Tabelul 40. Opțiuni de tratament reproductiv utilizate la pacienții cu variații genetice în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată**

Rezultatele testelor genetice	Nr. 96	%	Vârsta (ani)	FSH (mIU/ml)	TESE/ ICSI	Prezența spermatozoizi
<b>Citogenetice/cariotip</b>	24	25,0	34,8 ±4,8	11,9 ±10,1		
<b>Gonozomale, inclusiv:</b>	16	66,7	36,2 ±4,9	15,4 ±10,3		
SK/ XXY	11	68,7	35,6±4,9	20,2±8,7	-	-
47,XXY	1	4,2			-	-
46,XX +SRY	1	4,2				nu s-a recomandat
45,X/46,XY	1	4,2			-	-
46,Xdel(Y)(q11.21) del AZFbc	1	4,2				nu s-a recomandat
46,XYqh+	1	4,2			-	-
<b>Autozomale, inclusiv:</b>	8	33,3	32,0 ±2,9	4,9 ±4,8		
45,XY,rob(13/14)	1	4,2			-	-
46,XY,t(1;19)(23.2q;q12.4)	1	4,2			-	-
46,XY,15ps+	1	4,2			-	-
46,XY,22sts	1	4,2			-	-
46,XY,der(5),t(9;5)	1	4,2			-	-
46,XY, fra(17)(p12)	1	4,2			-	-
46,XY,inv(9)(p11q12)	1	4,2			-	-
46,XY,inv(9)(p13.21)	1	4,2			+	+
<b>Molecular genetice (AZF)</b>	10	10,4	33,0 ±3,7	6,4 ±3,5		
AZFabc	1	10				nu s-a recomandat
AZFb	2	20			-	-
AZFbc	2	20				nu s-a recomandat
AZFc	5	50			+(3)	-
<b>Molecular genetice (CFTR) delF508</b>	3	3,1	34,7 ±0,6	4,7 ±4,6	+	+

FSH - Hormonul Foliculostimulant; - nu s-a efectuat, lipsa spermatozoizi; + s-a efectuat, prezența spermatozoizi

Recuperarea spermatozoizilor la pacienții cu variații genetice, din păcate, nu a fost posibilă de realizat la toți pacienții, majoritatea pacienților au amânat procedura din motive financiare, la o parte din pacienți nu s-a efectuat, deoarece în laboratorul în care s-a realizat cercetarea posibilitatea de recuperare a spermatozoizilor a fost tehnica TESE, dar la pacienții cu anomalii cromozomiale în majoritatea cazurilor, microdeleții Y se recomandă, conform surselor de specialitate, tehnica microTESE. În studiul actual, s-a efectuat recuperarea spermatozoizilor, prin tehnica TESE la 1 pacient cu vârsta de 35 ani, având o inversie cromozomială 46,XY,inv(9)(p13.21), unde au fost obținuți spermatozoizi suficienți pentru ICSI. La fel a fost efectuată recuperarea spermatozoizilor la 3 pacienți cu deleții AZFc, prin tehnica TESE, unde nu au fost obținuți spermatozoizi. La toți pacienții cu mutație în gena CFTR s-au obținut spermatozoizi în urma recuperării chirurgicale prin tehnica TESE.

Tabelul 41. **Opțiuni de tratament reproductiv al pacienților cu microdeleții ale cromozomului Y în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată, adaptat [142, 149, 154]**

Fenotip	Cauza Genetică	Frecvența	Test	TRA	Moștenire
Masculin normal FSH ↔ ↑ LH Normozoospermie- Azoospermie	Microdeleții cromozomul Y	1/2.500 10-15% în azoospermie; 3-7% în oligozoospermie	Diagnostic Molecular genetic PCR STS regiunea Y; ZFY; SRY	În conformitate tipului de deleție	
Azoospermie/ Oligozoospermie severă	Y-AZF c deleție	AZFc del- 60%	STSY- regiunea AZFc sY254- genaDAZ sY255- DAZ sY153- DYS237 sY158- DYS241	micro-TESE + ICSI	De novo/ Y linkată Consiliere genetică/ AZFc del-transmitere la băieți; PGD
Azoospermie/ Blocarea spermatogenezei	Y-AZF b deleție	AZFb del 1-5%	STSY- regiunea AZFb sY117-DYS209 sY127-DYS218 sY134-DYS224 sY143-RBMY		
Azoospermie /Sindromul SCO/Blocarea spermatogenezei	Y-AZFc deleție	AZFc del- 22%	STSY- regiunea AZFc combinat cu AZFb	Donator spermă FIV	De novo Nu se transmite la urmași
Azoospermie/ Sindromul SCO	Y-AZFa deleție	AZFa del- 3%	STSY- regiunea AZFa sY84- DYS388 sY86- DYS148 DBY1- DBY sY620- USP9Y		
Azoospermie/ Sindromul SCO	Y-AZFabc Deleție	1	STSY- regiunea AZFc combinat cu AZFb și AZFc	Donator spermă FIV	

TRA- Tehnică de Reproducere Asistată; SCO - Sindromul Celulelor Sertoli; PCR – Reacția de polimerizare în lanț; STS- PGD- Diagnostic Genetic Preimplantațional; FSH - Hormonul Foliculostimulant; LH - Hormonul Luteinizant; ↑ - mărit; ↔ norma; FIV- Fertilizare în vitro

Consilierea genetică, în cadrul tehnicilor de reproducere, ar trebui să se bazeze pe următoarele direcții:

- i. Un cuplu în care bărbatul are infertilitate datorată microdelețiilor cromozomului Y se poate oferi opțiunea de fertilizare in vitro, folosind ICSI (injecție intracitoplasmatică de spermă). În această procedură, spermatozoizii prelevați din ejaculat (la bărbații cu oligozoospermie) sau extrași din biopsii testiculare (la bărbații cu azoospermie) sunt injectați prin ICSI într-un ovul recoltat prin FIV (fertilizare în vitro) [154]. În practica clinică, indicația pentru TESE sau micro-TESE chirurgicală pentru pacienții azoospermici trebuie luată în considerare pe baza



rezultatelor testelor molecular genetice a tipului de deleție AZFa, AZFb, AZF b,c și AZFc (Tabelul 41).

- ii. Conform studiilor, recuperarea spermei a avut succes pentru majoritatea bărbaților cu deleții în regiunea AZFc, dar rareori pentru bărbații cu deleții de AZFb și AZFa. Delețiile complete de AZFc au fost asociate cu o varietate de fenotipuri clinice și histologice, variind de la azoospermie la spermatogeneză reziduală și oligozoospermie. În delețiile complete AZFc care conduc la azoospermie, există o șansă de 50% de recuperare a spermatozoizilor cu TESE. Rata de succes depinde de tehnică și variază de la 9% până la 80% cu micro-TESE. Motivul pentru aceasta este că o copie autozomală a DAZ (DAZL) poate servi ca o „genă de rezervă”, ceea ce ar ajuta la păstrarea unei cantități mici de spermatogeneză reziduală la bărbații cu deleții AZFc, care elimină genele DAZ. Nu există astfel de copii autozomale „de rezervă” pentru gene în AZFb. În plus, deoarece în literatură au fost raportate scăderi progresive ale producției de spermatozoizi, a bărbaților care s-au dovedit a avea oligozoospermie și deleții AZFc ar trebui să li se ofere crioconservare preventivă a spermei la momentul diagnosticului [136, 155].
- iii. În cazul pacienților cu AZFb are loc blocarea spermatogenezei sau stoparea maturizării, există un eșec al spermatocitelor de a progresa dincolo de meioza I. Dar la 60% dintre indivizi, câteva spermatocite progresează la spermatozoizi și pot fi extrase din testicul. În mod similar, la ,aproximativ, 60% dintre bărbații cu sindromul SCO un număr mic de tubuli conțin, de fapt, câțiva spermatozoizi, care rezultă din focare mici de spermatogeneză.
- iv. Este important de explicat cuplului despre posibilitatea transmiterii infertilității cromozomului Y la descendenții de sex masculin înainte de a încerca fertilizarea prin ICSI și FIV.
- v. Dacă bărbatul este purtător al unei anomalii autozomale echilibrate, cuplul trebuie informat că rata de succes a sarcinii poate fi scăzută și că există un risc crescut de avort spontan. Cuplul ar trebui să fie sfătuit că fătul lor poate fi: afectat de o anomalie cromozomială, care poate provoca multiple anomalii congenitale, retard mintal și o speranță de viață redusă sau; fătul poate fi normal sau; fătul poate avea aceeași anomalie cromozomială ca și tatăl, ceea ce duce la o fertilitate redusă sau infertilitate.
- vi. Dacă bărbatul este purtător al unei anomalii structurale, care implică doar cromozomii sexuali, există un risc crescut de transmitere a infertilității și, eventual, a altor tulburări sau malformații, în funcție de localizarea punctului de întrerupere.

- vii. Dacă bărbatul are aneuploidie a cromozomului sexual (47,XXY etc.), cuplul ar trebui să fie consiliat că rata de succes a ICSI este variabilă, poate exista un risc crescut de avort spontan și există riscul transmiterii cromozomului sexual și aneuploidiei la descendent.
- viii. Diagnosticul prenatal al sarcinii concepute prin ICSI ar trebui să fie oferit cuplului în baza rezultatului examenului citogenetic, ce include tipul anomaliei cromozomiale la bărbat [156].
- ix. Cuplul ar trebui să fie informat că screening-ul diagnostic preimplantațional al pre-embriunilor poate fi o considerație pentru ei, chiar dacă această metodă de diagnostic înalt specializată, nu este disponibilă ca opțiune pentru ei la nivel local.
- x. În cele din urmă, cuplului ar trebui să i se ofere posibila alternativă de inseminare a donatorului în locul fertilizării asistate de ICSI.

**Tabelul 42. Opțiuni de tratament reproductiv al pacienților cu anomalii cromozomiale echilibrate în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată, adaptat [95, 156]**

Fenotip	Cauza genetică /frecvența	Test	TRA
Normospermia până la azoospermia; FSH ↔; Testosteron ↔; Majoritatea fenotip normal.	<i>Anomalii crs. de structură echilibrate</i> 5% din bărbații infertili	Examenul citogenetic/cariotipare FISH	FIV oligozoospermie microTESE/TESE azoospermie PGD
	<i>Translocații reciproce:</i> 0,9/1000 n.n. 0,5- 0,9% azoospermie, 0,6% oligozoospermie,	46,XY,t(1;19) 46,XY,t(9;5) etc.	
	<i>Translocații robertsoniene:</i> 0,5% azoospermie, 1,6% oligozoospermie.	45,XY,rob(13;14) 45,XY,rob(14;21) etc.	
	<i>Inversii:</i>	46,XY,inv(9)(p11q12) 46,XY,inv(9)(p13.21) etc.	

TRA- Tehnică de Reproducere Asistată; PGD - Diagnostic Genetic Preimplantațional; FSH - Hormonul Foliculostimulant; LH - Hormonul Luteinizant; ↑ - mărit; ↔ norma; FIV- Fertilizare în vitro; microTESE - Microscopic testicular retrieval of sperm

- xi. Bărbații azoospermici cu mutații în gena CFTR pot concepe copii prin TRA. Un bărbat afectat (aa) va transmite câte o alelă cu mutație a genei CFTR care cauzează boala fiecăruia dintre urmașii săi. Prin urmare, toți copiii săi vor fi purtători, sau cu FC, sau cu CBAVD. Riscul ca copilul său să moștenească ambele gene cu mutație a genei CFTR, depinde de statutul de purtător al partenerului său de reproducere. Testarea genetică moleculară CFTR ar trebui să fie oferită partenerului său de reproducere pentru a determina statutul ei de purtător CFTR. Dacă partenerul de reproducere este purtător de mutația în gena CFTR, descendenții lor vor prezenta riscul pentru FC sau CBAVD în 25% [157].

**Tabelul 43. Opțiuni de tratament reproductiv al pacienților cu anomalii cromozomiale în cadrul Tehnicilor de Reproducere Asistată, adaptat [72, 149]**

Fenotip	Cauza genetică /frecvența	Test	TRA	Moștenire
Azoospermia, oligozoospermia; FSH ↑, LH ↑ Testosteron ↓; statura înaltă, testicule mici, infertilitate, ginecomastie; tulburări neurocognitive, sindrom metabolic, etc.	XXY/Sindromul Klinefelter 1/700 nou-născuți de sex masculin; 10-15% în azoospermie, 2-5% oligozoospermie.	Examenul citogenetic/cariotip Forma clasică 47,XXY (80-90%) Forma mozaică 46,XY/47,XXY (6-7%) Polisomii X 48,XXXXY 49,XXXXY etc. (3-8%)	la pacienții cu oligozoospermie FIV + ICSI  la pacienții cu azoospermie până la vârsta de 35 ani micro TESE+ ICSI  la pacienții diagnosticați prepubertar în perioada pubertară consilierea genetică privind crioconservarea spermatozoizilor micro TESE	De novo
Azoospermia, Oligozoospermia, FSH ↔ ↑, LH ↑, Testosteron ↔ ↓; statură joasă, organe genitale masculine, criptoorhidism, hipospadias, ginecomastie, infertilitate.	XX la bărbați/ Sindromul de la Chapelle Cazuri rare 1:20.000 nou născuți	Examenul citogenetic/cariotip 46,XX+SRY (80%); FISH – prezența genei SRY; PCR- lipsa regiunii AZFa, AZFb, AZFc, prezența genei SRY 46,XX*SRY (20%); FISH – lipsa genei SRY; PCR- lipsa regiunii AZFa, AZFb, AZFc,	Utilizarea spermei de la donator (ulterior FIV).	AD  Nu este clar
Normospermia până la Azoospermia, FSH ↔ ↑, Testosteron ↔ ↓; Majoritatea fenotip normal, Minoritatea Statură înaltă, Întârzierea vorbirii, TSA, deficit de atenție, hiperactivitate.	XYY/Sindromul Jacobs 1/1.000 nou/născuți 0,4% oligozoospermie	Examenul citogenetic/cariotip Forma omogenă 47,XYY Forma mozaică 46,XY/47,XXY	FIV sau ICSI în cazul pacienților cu oligozoospermie  micro TESE+ ICSI în cazul pacienților cu azoospermie	Nu este clar

TSA - Tulburări ale spectrului de Autism; PGD- Diagnostic Genetic Preimplantațional; FSH - Hormonul Foliculostimulant; LH - Hormonul Luteinizant; ↑ - mărit; ↔ norma; ↓ micșorat; FIV- Fertilizare în vitro; microTESE - Microscopic testicular retrieval of sperm

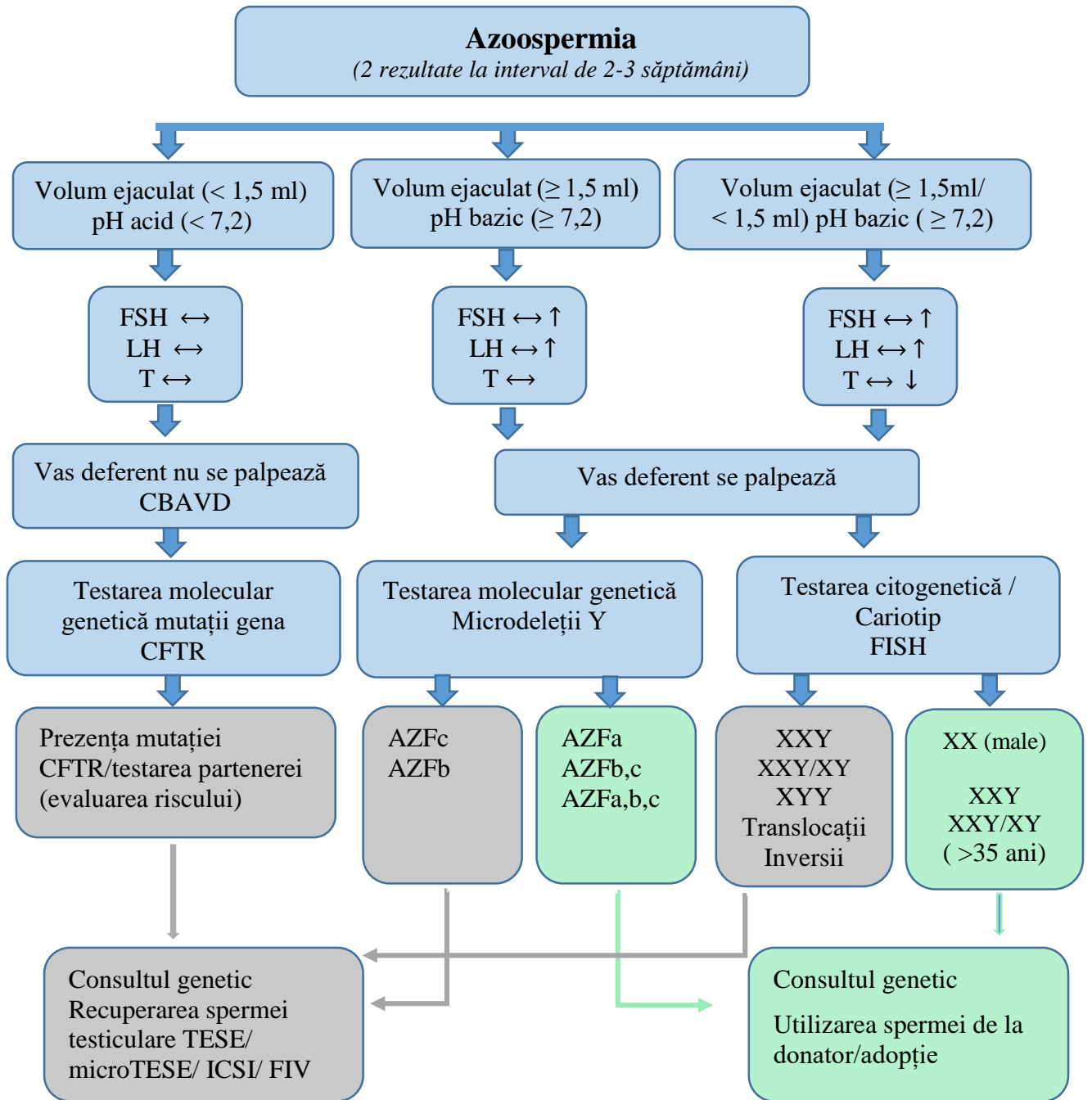


Figura 51. Algoritm de diagnostic genetic pentru mutații în gena CFTR, microdeleții Y și anomalii cromozomiale la bărbații cu azoospermie

FSH - Hormonul Foliculostimulant; LH - Hormonul Luteinizant; ↑ mărit; ↔ norma; ↓ micșorat; TESE - Testicular Sperm Extraction; microTESE - Microscopic testicular retrieval of sperm; FIV – Fertilizarea în vitro; CBAVD - Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens; CFTR - Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator

## 5. SINTEZA REZULTATELOR STUDIULUI

### 5.1. Sinteza rezultatelor studiului tendinței de modificare a parametrilor materialului seminal

La nivel global nivelul, fertilității masculine este în scădere continuă, iar Republica Moldova se înscrie în tendințele europene generale. Studiarea indicatorilor materialului seminal permit descrierea amploarei fenomenului fertilității și sănătății reproductive masculine. Conform OMS, diagnosticul de infertilitate cu implicarea factorului masculin este stabilit atunci când rezultatele analizei repetate ale spermogramei sunt sub valorile normale stabilite de OMS [46].

Calitatea și cantitatea materialului seminal este utilizată ca factor indirect de apreciere a potențialului de fertilitate masculină. Conform surselor de specialitate, analiza materialului seminal rămâne cea mai utilă și fundamentală investigație, care are o sensibilitate de 89,6% și permite să detecteze 9 din 10 bărbați cu o problemă autentică de infertilitate [32]. De asemenea, este considerată o metodă de laborator fundamentală în evaluarea partenerului infertil și ajută la definirea gradului de severitate a infertilității masculine [117, 158]. Evaluarea parametrilor spermei la bărbați este foarte importantă pentru cuplurile care întâmpină dificultăți în concepere, deoarece în funcție de rezultatele valorilor spermogramei se poate confirma s-au exclude la prima etapă factorul masculin, care influențează fertilitatea, oferind informații de prognostic și identificând oportunități pentru intervenții terapeutice. De asemenea, importanța acestei evaluări este argumentată și la nivel populațional, pentru a identifica posibilele diferențe temporale sau geografice în fertilitatea masculină [159]. Spermograma este un test care evaluează formarea și maturitatea spermei, ceea ce oferă o perspectivă nu numai asupra producției de spermă (volum), dar și a calității spermei (motilitate, morfologie a spermatozoizilor). La fel, ea oferă informații despre starea funcțională a tubilor seminiferi, epididimului și glandelor sexuale accesorii, iar rezultatele sunt adesea luate ca o măsură surogat a capacității unui bărbat de a obține o sarcină în cuplu. Evaluarea potențialului de fertilitate masculină prin analiza spermogramei rămâne, în continuare, un instrument clinic de bază [32, 38, 46, 47, 117].

Pe parcursul mai multor ani, Departamentul de reproducere al OMS a revizuit și actualizat valorile de referință ale spermogramei. Ultima versiune din anul 2010 include intervale de referințe, semnificativ, mai mici, comparativ cu recomandările precedente din 1980, 1987, 1992 și 1999. Cu toate că, OMS a scăzut treptat valorile de referință pentru evaluarea parametrilor materialului seminal, rezultatele multiplelor studii efectuate în diferite regiuni geografice în ultimele decenii demonstrează scăderea continuă a fertilității masculine [46, 117, 160]. Mai mult,

scăderea calității spermei și a sănătății reproductive masculine a fost descrisă recent ca o criză globală [161].

Pe parcursul anilor, au fost publicate numeroase studii, în care analiza materialului seminal a servit un instrument cheie, pentru evaluarea tendinței în infertilitatea masculină [46, 162, 163]. Analiza datelor din literatură indică faptul că calitatea și cantitatea materialului seminal este în continuă descreștere, ceea ce scoate în lumină un fenomen alarmant de scădere a fertilității masculine. Acest lucru a fost demonstrat în mai multe studii din multiple regiuni ale lumii, care vin să argumenteze că sănătatea reproductivă a bărbaților e într-un declin rapid în ultimii ani, cu unele variații în unele regiuni geografice [46, 117, 164–166]. De exemplu, un studiu realizat în regiunea din Finlanda în perioada anilor 1998 până în 2006, a constatat o scădere în calitatea materialului seminal în populația generală [167]. Un alt studiu realizat în Tunisia de Sud, pe o perioadă de 12 ani pe un eșantion de 2940 de bărbați în relațiile infertile a concluzionat, de asemenea, declinul calității materialului seminal [168]. În completare, un amplu studiu efectuat în Franța între anii 1988 și 2007, în cadrul Laboratorului de Biologie al Reproduserii al Spitalului Universitar din Marsilia, care a inclus analiza materialului seminal a 10.932 de parteneri bărbați ai cuplurilor infertile a concluzionat că întreaga populație a demonstrat tendințele în scădere ale concentrației de spermă (1,5% pe an), numărului total de spermatozoizi (1,6% pe an), motilității totale (0,4% pe an), motilității rapide (5,5% pe an) și morfologiei normale (2,2% pe an) [164].

Rezultatele analizei parametrilor spermogramei (n=5767) sunt similare cu alte studii de specialitate și ne relevă că cantitatea și calitatea materialului seminal a scăzut, semnificativ, în perioada de studiu 2012-2020 [117]. Trendul de scădere a fost, semnificativ, pentru toți parametrii materialului seminal: volum (1% pe an); concentrația spermatozoizilor (3,2% pe an); numărul total de spermatozoizi (3,8% pe an); mobilitatea progresivă (1,9% pe an); concentrația de spermatozoizi mobili (3,6% pe an); numărul total de spermatozoizi mobili (4,7% pe an); concentrația spermatozoizilor funcționali (3,9% pe an); numărul total de spermatozoizi funcționali (5,2% pe an); forme normale (1,8% pe an) și vitalitate (3,8% pe an).

Vârsta medie a bărbaților la momentul realizării spermogramei în perioada 2012 - 2020, pe întregul eșantionul (n=5767) a fost de  $37,4 \pm 6,3$  ani, (Î 95%: 37,3– 37,6; mediana: 37). Se observă o creștere a adresabilității pacienților mai tineri, astfel, în anul 2012, media vârstei s-a înregistrat de  $41,4 \pm 5,5$  ani, (Î 95%: 40,6– 41,0; mediana: 41), iar anul 2020, ajunge de  $33,5 \pm 5,5$  ani (Î 95%: 33,0– 34,0; mediana: 33), rata medie de descreștere anuală a mediei fiind de 2,1%

Din întregul eșantion al spermogramelor analizate (n=5767), rezultatele spermogramei cu parametrii în limitele normale (normozoospermie) este de 29,2% (n=1685).

Rezultatele evaluării tendinței parametrilor materialului seminal cu normozoospermie (n=1685) arată că cantitatea și calitatea materialului seminal scade în perioada de studiu. Tendințele de scădere au fost semnificative pentru toți parametrii spermogramei cu excepția unui singur pentru viabilitate: volumul de material seminal (de la  $3,2 \pm 1,2$  ml până la  $2,9 \pm 0,9$  ml,  $0,05\text{ml} / 1,04\%$  pe an); concentrația spermatozoizilor ( $74,3 \pm 23,1$  mln/ml până la  $64,7 \pm 16,8$  mln/ml,  $1,14$  mln/ml /  $1,4\%$  pe an); numărul total de spermatozoizi ( $234,2 \pm 113,0$  mln până la  $183,5 \pm 71,3$  mln,  $6,6$  mln /  $2,4\%$  pe an); mobilitatea progresivă ( $50,4 \pm 7,9\%$  până la  $47,1 \pm 5,7\%$ ,  $0,4\%$  /  $0,7\%$  pe an); concentrația de spermatozoizi mobili ( $40,6 \pm 21,3$  mln/ml până la  $34,3 \pm 22,5$  mln/ml,  $0,7$  mln/m /  $1,7\%$  pe an); numărul total de spermatozoizi mobili ( $124,6 \pm 73,1$  mln până la  $88,6 \pm 41,7$  mln,  $4,6$  mln /  $3,2\%$  pe an); concentrația spermatozoizilor funcționali ( $24,0 \pm 14,3$  mln/ml până la  $17,9 \pm 11,9$  mln/ml,  $0,6$  mln/ml /  $2,8\%$  pe an); numărul total de spermatozoizi funcționali ( $74,7 \pm 53,6$  mln până la  $47,8 \pm 28,3$  mln,  $3,4$  mln /  $4,0\%$  pe an); indexul mobilității ( $202,5 \pm 62,6$  până la  $176,1 \pm 45,5$ ,  $3,1$  /  $1,4\%$  pe an) și forme normale ( $34,2 \pm 6,3\%$  până la  $31,5 \pm 4,4\%$ ,  $0,3\%$  /  $0,8\%$  pe an).

În anii 2012-2020, din numărul total (n=5767) de spermograme analizate, 29,2% (n=1685) au prezentat valori normale ale materialului seminal - normozoospermie și 70,8% (n=4082) tulburări de spermatogeneză. Cea mai frecventă anomalie a spermatogenezei a fost înregistrată astenozoospermia în 35% (n=2016), urmată de oligozoospermia în 27,8% (n=1606), azoospermia 3,9% (n=224), oligoastenozoospermia 2,5% (n=143) și oligoastenoteratozoospermia 1,6% (n=93).

Normozoospermia, în anul 2012, a fost de 46,5% și în anul 2020, ajunge la 14,5%, (scade cu 7,6% pe an). Astenozoospermia a fost depistată în anul 2012, în 21,5% și anul 2020, în 47,2%, (creștere cu 13,2% pe an). Oligozoospermia observăm creștere de-a lungul anilor de studiu, de la 21% până la 30,9%, (crește cu 5,2%), inclusiv și oligoastenozoospermia de la 2,4% până la 2,6% și oligoastenoteratozoospermia de la 1,5 până la 1,6%.

Reprezentarea indicatorilor calitativi și cantitativi a materialului seminal prin regresie la un număr semnificativ de (n=5767) spermograme demonstrează prezența problemelor de deteriorare a sănătății reproductive masculine. Datele prezentate sunt indicatori substanțiali, ce pot servi ca dovezi argumentate pentru autoritățile de sănătate să ia decizii în cunoștință de cauză, de a se concentra pe programul de management și prevenire a infertilității masculine.

## 5.2. Sinteza rezultatelor studiului variațiilor genetice la bărbații cu azoospermie

Cea mai severă formă de infertilitate masculină este azoospermia, care reprezintă lipsa totală a spermatozoizilor din lichidul seminal recoltat sau ejaculat. Azoospermia este identificată la 1% din populația masculină, în timp ce frecvența azoospermiei în populația bărbaților infertili variază de la 10 până la 15% [14].

Anterior, bărbații cu azoospermie au fost clasificați în categoria cu infertilitate ireversibilă, și utilizarea unui donator de spermatozoizi a fost considerată una dintre cele mai bune opțiuni de concepere. În prezent, datorită tehnicilor avansate de reproducere asistată, cum ar fi ICSI, TESE și microTESE, bărbații cu azoospermia chiar și cu cea mai severă formă de infertilitate pot avea proprii copii biologici [26].

Vârsta medie a bărbaților azoospermici ce se confruntă cu infertilitatea în cuplu pe întregul eșantion (n=96) a fost de  $33,8 \pm 5,3$  ani, (ÎÎ 95%: 32,7 – 34,9; mediana: 33,0). Media istoriei infertilității la întregul eșantion a fost de  $6,5 \pm 4,6$  ani, (ÎÎ 95%: 5,6 – 7,5). Media de vârstă la care s-a diagnosticat infertilitatea pe tot eșantionul este de  $27,3 \pm 3,8$  ani, (ÎÎ 95%: 26,5 – 28,0). Acest fapt fiind și unul evident explicat prin faptul că la această vârstă cuplurile mai frecvent planifică să conceapă copii.

Bărbații cu azoospermie prezintă cel mai mare risc a fi purtători a unor anomalii genetice (25%). În studiul actual, în urma investigațiilor molecular genetice și citogenetice ale (n=96), pacienți cu azoospermie în 36,5% (n=35) au fost diagnosticați cu variații genetice (sublot 1) și în 63,5% (n=61) nu s-au diagnosticat cu variații genetice (sublot 2). În 43,8% (n=28) au fost diagnosticați pacienții cu variații genetice la vârsta de 30 - 39 ani, urmată grupul de vârstă  $\geq 40$  ani în care ponderea acestora a fost de 30,0% (n=3) și 19 – 29 ani de 18,2% (n=4) (Tabelul 13). Majoritatea pacienților în 73,8% (n=31) au fost diagnosticați cu variații genetice la o vârstă tardivă  $\geq 30$  ani, ce descriu anumite lacune ale sistemului medical. Evident că, motivele diagnosticării tardive a pacienților cu variații genetice sunt multiple, cum ar fi: particularităților lotului de cercetare, lipsa adresabilității pacienților, lipsa îndreptării pacienților la consultul medico-genetic, lipsa lucrului în echipe multidisciplinare etc.

În epoca tehnologiilor de reproducere asistată, în care sunt eliminate barierele naturale pentru fertilizarea ovulelor, definirea defectului genetic care stă la baza infertilității are și mai multă relevanță decât înaintea aplicării acestor tehnologii. Reieșind din cele menționate, diagnosticarea unei cauze genetice de infertilitate are o semnificație clinică evidentă, deoarece ar putea avea implicații asupra sănătății reproductive și a sănătății generale a pacientului și a copiilor săi.



Determinarea cauzei infertilității masculine cu azoospermie poate fi realizată prin examenul citogenetic și molecular genetic. Dintre multiplele cauze genetice implicate în azoospermie unele din cele mai relevante clinic, sunt anomaliile cromozomiale, microdelețiile cromozomului Y și mutațiile genei CFTR.

Prevalența variațiilor cromozomiale a fost raportată între 15% și 25% la bărbații cu azoospermie [52]. Conform examenului citogenetic, în studiul actual, din numărul total de (n=96) bărbați infertili cu azoospermie 75% (n=72) au prezentat cariotip normal 46,XY și 25% (ÎÎ 95%: 24,1 – 25,9), (n=24) au prezentat variații de număr sau structură a cromozomilor (Tabelul 30).

De menționat faptul, că rezultatele obținute sunt comparabile cu alte studii de specialitate din regiunile apropiate ale Republicii Moldova cum ar fi: Bulgaria 20,7% (19,3 – 22,1); România 30,0% (ÎÎ 95%: 29,1 – 30,9); Turcia 19,2% (18,2 – 20,2); Ucraina 35,0% (ÎÎ 95%: 32,7 – 37,3) etc. (Tabelul 44, Figura 52).

**Tabelul 44. Prevalența anomaliilor cromozomiale identificate la pacienții cu azoospermie din lotul cercetat comparativ cu alte studii similare**

Autori	Regiune	Azoospermie nr. cazuri	Anomalii cromozomiale nr. cazuri	%	[ÎÎ 95%]
Acest studiu	Republica Moldova	96	24	25,0	[24,1 – 25,9]
Pylyp LY et. al (2013) [169]	Ucraina	40	14	35,0	[32,7 – 37,3]
Dana Mirela et al. 2014 [170]	România	100	30	30,0	[29,1 – 30,9]
Kovachva Katya et al. 2018 [171]	Bulgaria	58	12	20,7	[19,3 – 22,1]
Orsolya Bellovits et al. 2006 [172]	Ungaria	71	6	8,0	[7 – 9,2]
Elsbeth Dul et al. 2012 [173]	Olanda	79	12	15,2	[14,3 – 16,1]
R.B. Donker et al. 2017 [52]	Olanda	1663	240	14,5	[14,4 – 14,5]
Fattoruso O. et al. 2009 [52]	Italia	55	6	10,5	[9,8 – 12,0]
Mushtak T. S. Al-Ouqaili et al. 2020 [174]	Turcia	78	15	19,2	[18,2 – 20,2]
Koşar PA et al. (2010) [175]	Turcia (sud)	92	5	5,4	[5,0 – 5,9]
Yassine Naasse et al. 2015 [176]	Maroc	444	58	13,1	[12,9 – 13,2]
Fu Li et al. 2012 [177]	China	945	139	14,7	[14,6 – 14,8]
Alexander N. Yatsenko et al 2009 [178]	USA Texas	264	35	13,3	[13,0 – 13,5]
Fernanda A et al. 2011 [179]	Brazilia	43	5	11,6	[10,2 – 13,1]
K Lakshmi Rao1 et al. 2005 [180]	India	272	30	11	[10,8 – 11,3]

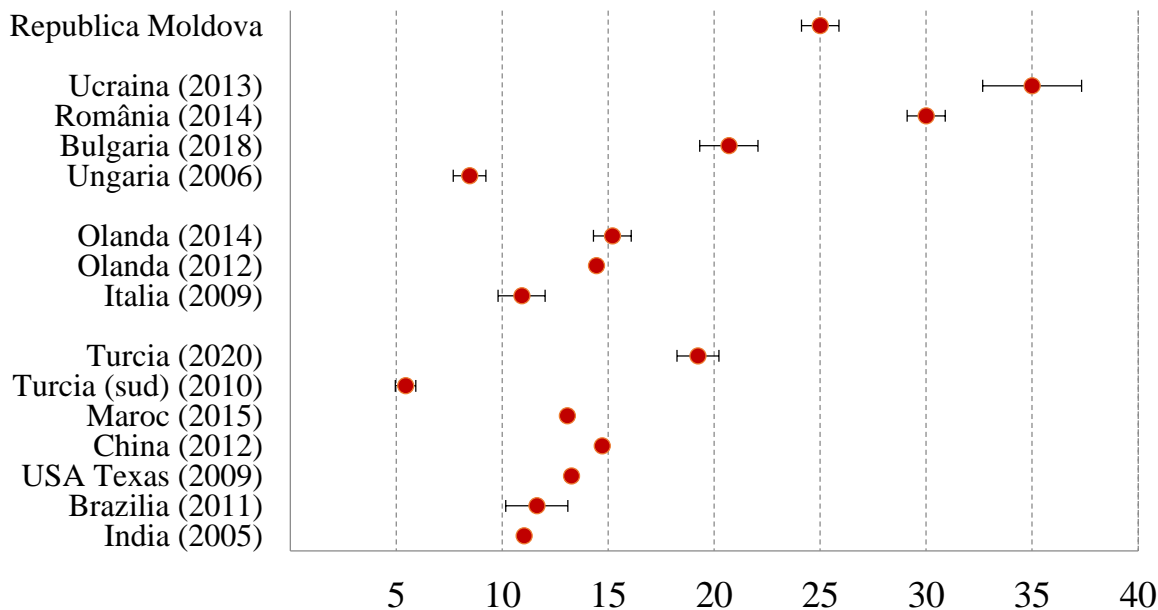


Figura 52. Forest plot pentru prevalența anomaliilor cromozomiale la pacienții azoospermici cercetați comparativ cu alte studii similare

Anomaliile cromozomiale de număr ale cromozomilor sexuali sunt cele mai frecvente, dintre care cea mai frecventă anomalie cromozomială este Sindromul Klinefelter, diagnosticată în 10 – 15% [60], acest fenomen se observă și în cercetarea actuală. Prevalența anomaliilor cromozomilor sexuali este de 16,7% (n=16) și 8,3% (n=8) anomalii autozomale. Cea mai frecventă anomalie gonozomală este disomia X, Sindromul Klinefelter de 11,5% (n=11) din lotul total (n=96) al bărbaților azoospermice. Rezultatele cercetării sunt comparabile cu sursele bibliografice, care raportează aceeași frecvență înaltă a SK printre bărbații azoospermici de 10-15%. Conform rezultatelor citogenetice, cea mai frecventă variantă cromozomială diagnosticată la pacienții cu SK a fost forma omogenă a trisomiei 47,XXY (10 cazuri – 90,9%), urmată de forma mozaică aceleași forme clasice 47,XXY/46,XY (1 caz – 9,1%). Vârsta medie a pacienților cu SK a fost de 35,5 ±4,9 ani (ÎÎ 95%: 32,3– 38,8; mediana: 35,0). Media infertilității acestora a fost de 6,3 ±3,1 ani (ÎÎ 95%: 4,2– 8,3; mediana: 6,0). Diagnosticarea pacienților la vârsta postpubertară este cea mai frecventă descrisă în sursele de specialitate atunci când manifestările clinice ginecomastia, hipogonadismul și, respectiv, infertilitatea devin evidente [50, 118]. În cercetarea actuală, ginecomastia este prezentă în 90,9% (n=10), hipogonadismul în 81,8% (n=9), constituția hiperstenică în 72,7% (n=8). Valoarea medie a nivelului hormonului FSH pentru pacienții cu SK este de 20,2 ±8,7 mIU/ml, (ÎÎ 95%: 14,3-26,1; mediana 19,2) mult mai mare comparativ cu pacienții cu cariotip normal de 7,7±7,3 mIU/ml, (ÎÎ 95%: 5,9-9,4; mediana 4,7): (F=26,499; p=0,000). Media totală a nivelului hormonului LH la pacienții cu SK a înregistrat valoarea de 19,5 ±7,3 mIU/ml, (ÎÎ 95%: 14,6-24,4; mediana 21,5, la fel, mult mai mare comparativ cu pacienții cu

cariotip normal  $7,2 \pm 5,3$  mIU/ml, (Î 95%: 5,9-8,5; mediana 5,0): ( $F= 45,297$ ;  $p=0,000$ ). Valoarea medie a nivelului de testosteron la pacienții SK este egală cu  $3,4 \pm 1,1$  ng/ml, (Î 95%: 2,7-4,1; mediana 3,2), iar la pacienții 46,XY–  $3,0 \pm 1,3$  ng/ml; (Î 95%: 2,7-3,3; mediana 3,0). Se observă că media pentru testosteronul liber la pacienții SK este mai joasă comparativ cu pacienții ce prezintă cariotip normal. Media testosteron liber la pacienții SK fiind de  $7,1 \pm 6,8$  ng/ml, (Î 95%: 1,4-15,6; mediana 2,8), iar la 46,XY–  $13,8 \pm 8,6$  ng/ml; (Î 95%: 9,7-18,0; mediana 14,0).

Alte anomalii gonozomale identificate din lotul total ( $n=96$ ) al bărbaților azoospermici a fost disomia Y, 47,XYY – Sindromul Jacobs, cu o frecvență de 1,04%, acest sindrom este, relativ, frecvent la 1 din 1000 de nou născuți de sex masculin. La un (1,04%) bărbat a fost identificat cariotipul 46,XX – inversia de sex la bărbat XX sau sindromul de la Chapelle, frecvența bărbaților XX în populația generală fiind foarte rară (1 din 20.000). La 1 pacient a fost identificat mozaicul 45,X/46,XY - disgenezia gonadică mixtă ce se întâlnește rar cu o frecvență de 1/15.000 nou născuți. Variații structurale microscopice ale cromozomului Y au fost identificate la 2 pacienți, la un pacient cariotipul 46,X,del(Y)(q11.21) și un caz cariotipul 46,XYqh+( $Y \geq 18$ ).

Cele mai frecvente anomalii cromozomiale autozomale depistate au fost rearanjamentele cromozomiale echilibrate în 5 cazuri. Translocațiile sunt cele mai frecvente anomalii cromozomiale echilibrate, în studiul curent au fost depistate în 3,1% ( $n=3$ ) din lotul total ( $n=96$ ). Translocațiile pot fi de două tipuri: reciproce și robertsoniene. Translocațiile reciproce au fost depistate în 2,1% ( $n=2$ ) cazuri - 46,XY,t(1;19)(q23.2;q13.4) și 46,XY,der(5),t(9;5), și robertsoniene 1 caz - 45,XY,rob(13;14)(q10;q10). Inversiile sunt cele mai frecvente rearanjamente cromozomiale echilibrate după translocații. Acest fapt se atestă și în studiul actual, s-au identificat în 2,1% ( $n=2$ ) cazuri - 46,XY,inv(9)(p11q12) și 46,XY,inv(9)(p13q21).

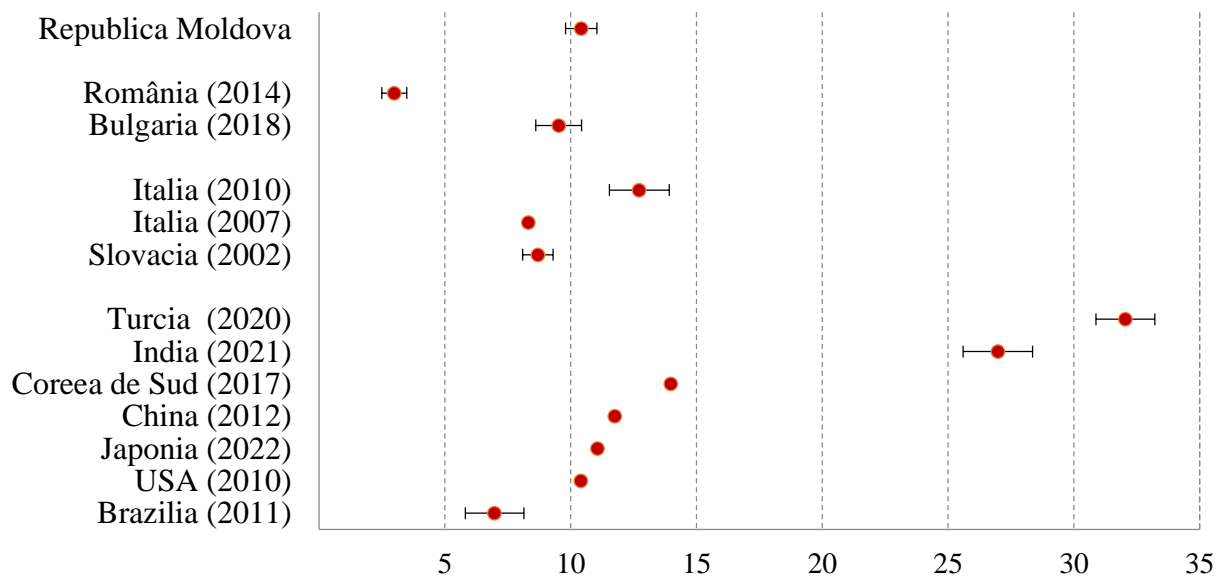
Au fost identificate polymorfisme cromozomiale ale cromozomilor autozomi în 2,1% ( $n=2$ ) cazuri - 46,XY,15ps+ și 46,XY,22ps+, și un caz a fost identificat cu situs fragil 46,XY, fra(17)(p12) din 96 bărbați cu azoospermie.

Microdelețiile, în cadrul regiunii AZF, sunt depistate în, aproximativ, 10-18% de bărbați cu azoospermie. Frecvența microdelețiilor cromozomului Y sunt, frecvent, diagnosticate într-un procent variabil în infertilitatea masculină, în diferite populații geografice de la 1% până la 55%. Prevalența microdelețiilor Y în regiunea AZF identificată în acest studiu a fost de 10,4% în rândul pacienților azoospermici ( $n=96$ ). Această frecvență este similară cu cea raportată la pacienții din USA (10,4%), Japonia (11,1%) și China (11,7%), fiind mai mică comparativ cu pacienții din Turcia (32,0%), India (26,9), Coreea de Sud (13,9%). Frecvențe mai joase au fost raportate în România (3%), Brazilia (6,9%) și Slovacia (8,6%) (Tabelul 45, Figura 53). Frecvențele microdelețiilor Y variază de la un studiu la altul datorită mai multor factori precum dimensiunii

eșantioanelor, criteriilor selective de includere a subiecților, numărului de markerii STS utilizați, diferitor regiuni geografice, factori de mediu, ocupaționali expunerile și/sau etnia populației studiate [137].

**Tabelul 45. Prevalența microdelețiilor cromozomului Y în acest studiu comparativ cu alte studii similare**

Autori	Regiune	Azoospermie nr. cazuri	Microdeleții ale crs. Y nr. cazuri	%	[ÎÎ 95%]
Acest studiu	Republica Moldova	96	10	10,4	[9,8 – 11,0]
Dana Mirela et al 2014 [170]	România	67	2	3	[2,5 – 3,5]
Kovacheva Katya et al. 2018 [171]	Bulgaria	63	6	9,5	[8,6 – 10,4]
Fattoruso O. et al. 2009 [52]	Italia	55	7	12,7	[11,5 – 13,9]
Alberto Ferlin et al 2007 [91]	Italia	625	52	8,3	[8,2 – 8,4]
Peterlin B et al. 2002 [181]	Slovacia	92	8	8,6	[8,1 – 9,3]
Mushtak T. S. Al-Ouqaili et al. 2020 [174]	Turcia	78	25	32,0	[30,9 – 33,2]
Saurav Dutta et al. 2021 [182]	India	63	17	26,9	[25,6 – 28,4]
Shin Young Kim et al. 2017 [183]	Coreea de Sud	765	107	13,9	[13,9 – 14,1]
Fu Li et al. 2012 [177]	China	945	111	11,7	[11,7 – 11,8]
Ishikawa T et al 2022 [184]	Japonia	1373	152	11,1	[11,0 – 11,1]
Stahl PJ et al. 2010 [109]	USA	1153	120	10,4%	[10,4 – 10,5]
Fernanda A et al. 2011 [179]	Brazilia	43	3	6,9%	[5,8 -8,1]



**Figura 53. Forest plot pentru prevalența microdelețiilor cromozomului Y în acest studiu comparativ cu alte studii similare**

Microdelețiile genelor din aceste regiuni pot duce la eșec spermatogen de diferite grade, cum ar fi o absență totală de spermatogeneză numită „Sindromul Celulelor Sertoli” (SCO) sau o oprire de maturizare a spermatogenezei, ce influențează prognosticul pentru recuperarea spermatozoizilor prin tehnicile de reproducere asistată.

În cazurile bărbaților cu microdeleții Y în regiunea AZFc, este necesară ICSI pentru a le depăși infertilitatea, deoarece toți spermatozoizii de la bărbații cu deleții Y prezintă aceeași microdeleție, descendenții de sex masculin ICSI ai bărbaților cu microdeleții Y (AZFc) vor moșteni, de asemenea, deleția și vor prezenta infertilitate la vârsta adultă.

Dintre numărul total al pacienților cu azoospermie (n=96) deleția regiunii AZFc a fost identificată în 5,2% (5/96), urmată de AZFb, 2,08% (2/96), AZFbc, 2,08% (2/96), AZFabc, 1,0% (1/96).

Toți pacienții 3,1% (n=3) cu mutații în gena CFTR, au fost depistați ca purtători ai mutații în gena  $\Delta F508$ . Media cea mai mică a volumului și pH-ului a fost identificată la pacienții cu mutații în gena CFTR, ceea ce indică că volumul și pH-ul materialului seminal sunt importante pentru stabilirea diagnosticului diferențial al cauzei azoospermiei. La pacienții azoospermici cu probe de volum redus cuplate concomitent cu pH acid, diagnosticul diferențial este CBAVD fiind asociat cu mutația în gena CFTR, și astfel, toți pacienți cu azoospermie, în special, cu volumul < 1,5 ml și pH < 7,2 trebuie să fie investigați pentru mutațiile genei CFTR. În studiul actual, prezența congenitală bilaterală a canalului deferent nu se palpează la toți pacienții cu mutații în gena CFTR, ( $\chi^2=35,0$ ; gl=2; p=0,000).

Detectarea unui cariotip anormal și a diferitor mutații genice este foarte importantă pentru o consiliere genetică complexă și eficientă, care să includă toate informațiile despre tipul individual de anomalie/polimorfism cromozomial, relevanța sa clinică, posibilă moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.

Consultul medico – genetic ghidează cuplurile infertile să ia decizii informate atunci când aleg pentru o reproducere asistată medical. Prin urmare, screening-ul citogenetic și molecular genetic continuă să rămână o bună practică pentru o diagnosticare, evaluare, prognostic adecvat, și tratament reușit.

## CONCLUZII GENERALE

1. Studiul parametrilor materialului seminal prin evaluarea a 5676 spermograme, pe perioada anilor 2012-2020, a demonstrat un declin, semnificativ, statistic ( $p < 0,05$ ) pentru toți indicatorii calitativi și cantitativi a spermogramei; o descreștere a normozoospermiei cu 7,6% pe an; o creștere a oligozoospermiei cu 5,2%, astenozoospermiei cu 13,7% și oligoastenozoospermiei cu 1,0% pe an; o adresabilitate sporită a pacienților tineri (în 2012 – media vârstei a fost  $41,4 \pm 5,5$  ani, iar în anul 2020, a fost  $33,5 \pm 5,5$  ani); ceea ce ar reprezenta indirect o regresie a sănătății reproductive masculine.

2. Vârsta medie a bărbaților cu azoospermie, pe întregul eșantion ( $n=96$ ), a fost de  $33,8 \pm 5,3$  ani, (Î 95%: 32,7 – 34,9; mediana: 33,0), media istoriei infertilității de  $6,5 \pm 4,6$  ani, (Î 95%: 5,6 – 7,5).

3. Investigațiile citogenetice realizate la pacienții cu azoospermie ( $n=96$ ) au identificat variații ale cariotipului în 25,0% cazuri, dintre care cu anomalii ale cromozomilor sexuali 16,7%: 47,XXY – sindromul Klinefelter (11,5%); variații structurale microscopice ale cromozomului Y (2,1%); câte un caz 47,XYY – Sindromul Yacobs; 46,XX, bărbat – inversie de sex, 45,X/46,XY - disgenezia gonadică mixtă: și cu anomalii ale cromozomilor autozomi în 8,3%: translocatii – (3,1%); inversii – (2,1%), polimorfisme cromozomiale – (2,1%) și un caz cu 46,XY, fra(17)(p12).

4. Evaluarea regiunii AZF a cromozomului Y, prin tehnica multiplex PCR la pacienții cu azoospermie ( $n=96$ ), a identificat deleții în regiunea AZF în 10,4% de cazuri: deleția regiunii AZFc (5,2%); AZFb (2,08%), AZFbc (2,08%), AZFabc (1,0%).

5. Evaluarea mutațiilor genei CFTR (delF508 și G542X) prin testul PCR la pacienții cu azoospermie ( $n=96$ ) a identificat mutație heterozigotă N/ $\Delta$ F508 în 3,1% cazuri, iar testarea partenerelor la aceleași mutații CFTR a identificat statut de homozigot sănătos.

6. Corelarea particularităților fenotipice ale pacienților cu azoospermie ( $n=96$ ) cu rezultatele testelor genetice evidențiază: la pacienții cu mutații în gena CFTR s-au înregistrat valori  $< 1,5$  ml ale volumului și valori  $< 7,2$  ale pH-ul materialului seminal, comparativ cu pacienții cu cariotip anormal sau deleții AZF; la subiecții cu cariotip anormal s-au depistat valori înalte ale FSH, LH versus pacienții cu deleții AZF sau mutații în gena CFTR; la bărbații cu aneuploidii ale cromozomului X s-au înregistrat hipogonadismul și ginecomastia; pacienții cu mutații în gena CFTR au prezentat CBAVD.

7. Consultul și sfatul genetic a cuplului infertil oferă posibilitatea confirmării diagnosticului clinic, elucidarea cauzei infertilității, evaluarea riscului de transmitere a anomaliilor genetice la descendenți, alegerea unei strategii diagnostic-terapeutice reproductive personalizate.

## RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Evaluarea simultană a partenerului feminin și masculin în cuplurile ce se confruntă cu infertilitatea.
2. Abordarea complexă clinică, paraclinică și genetică a cuplurilor infertile datorate azoospermiei în cadrul unor echipe multidisciplinare ce includ specialiști din domeniul andrologiei, urologiei, medicinei reproductive, psihologiei și geneticii.
3. Abordarea personalizată a pacientului cu azoospermie în scopul elucidării cauzei infertilității, evaluării riscului genetic în cazul asocierii variațiilor genetice și selectării corecte a opțiunilor în tratamentul de reproducere asistată.
4. Pacienții cu azoospermie ce prezintă:
  - volumul ejaculatului < 1,5 ml, pH-ul < 7,2 și valori normale de FSH, necesită a fi testați pentru mutațiile genei CFTR;
  - volumul ejaculatului  $\geq$  1,5 ml și pH-ul  $\geq$  7,2 și valori normale de FSH, necesită a fi investigați pentru delețiile în regiunea AZF;
  - volumul ejaculatului  $\geq$  sau < 1,5 ml și pH-ul  $\geq$  7,2 și valori normale sau ridicate de FSH, trebuie să fie investigați citogenetic.
5. Indicațiile pentru TESE sau micro-TESE chirurgicală la pacienții azoospermici, necesită luate în considerare în baza rezultatelor testelor citogenetice și molecular-genetice:
  - pacienților cu anomalii cromozomiale de număr sau de structură și pacienților cu microdeleții ale cromozomului Y - deleție AZFb și AZFc, se recomandă microTESE;
  - pacienților cu mutații în gena CFTR, se recomandă recuperarea spermatozoizilor prin TESE;
  - pacienților tineri cu sindromul Klinefelter, se recomandă microTESE și crioconservarea spermatozoizilor.

## BIBLIOGRAFIE

1. ZHANG, H.G. et al. Male carriers of balanced reciprocal translocations in Northeast China: sperm count, reproductive performance, and genetic counseling. In: *Genetics and molecular research*. 2015. Vol. 14, nr. 4, pp. 18792-18798. DOI 10.4238/2015.DECEMBER.28.28. ISSN:1676-5680
2. MORSHED-BEHBAHANI, B. et al. Infertility policy analysis: a comparative study of selected lower middle- middle- and high-income countries. In: *Globalization and Health*. 2020. Vol. 16, nr. 1, pp. 1-9. DOI 10.1186/S12992-020-00617-9/TABLES/4. ISSN:1744-8603
3. DATTA, J. et al. Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. In: *Human reproduction Oxford, England*. 2016. Vol. 31, nr. 9, pp. 2108-2118. DOI 10.1093/HUMREP/DEW123. ISSN:1460-2350
4. INHORN, M.C., PATRIZIO, P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. In: *Human reproduction update*. 2015. Vol. 21, nr. 4, pp. 411-426. DOI 10.1093/HUMUPD/DMV016. ISSN:1460-2369
5. AZIMI, C., KHALEGHIAN, M., FARZANFAR, F. A retrospective chromosome studies among Iranian infertile women: Report of 21 years. In: *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 2013. Vol. 11, nr. 4, pp. 315. ISSN:2008-2177
6. ASSIDI, M. Infertility in Men: Advances towards a Comprehensive and Integrative Strategy for Precision Theranostics. In: *Cells*. 2022. Vol. 11, nr. 10, pp. 1-29. DOI 10.3390/CELLS11101711. ISSN:2073-4409
7. VANDER BORGHT, M., WYNS, C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. In: *Clinical Biochemistry*. 2018. Vol. 62, pp. 2-10. DOI 10.1016/J.CLINBIOCHEM.2018.03.012. ISSN:0009-9120
8. OMBELET, W. et al. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. In: *Human Reproduction Update*. 2008. Vol. 14, nr. 6, pp. 605. DOI 10.1093/HUMUPD/DMN042. ISSN:1355-4786
9. SHREFFLER, K.M., GREIL, A.L., MCQUILLAN, J. Responding to Infertility: Lessons from a Growing Body of Research and Suggested Guidelines for Practice. In: *Family Relations*. 2017. Vol. 66, nr. 4, pp. 644-658. DOI 10.1111/FARE.12281/FULL. ISSN:1741-3729
10. KOO, B., STRATILA, M., CIUBOTARU, V. *Raport de evaluare finală a Strategiei Naționale a Sănătății Reproductive 2005-2015*. . 2016.
11. AGARWAL, A. et al. A unique view on male infertility around the globe. In: *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2015. Vol. 13, nr. 1, pp. 1-9. DOI 10.1186/S12958-015-0032-1. ISSN:1477-7827
12. AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE M. Report on evaluation of the azoospermic male. In: *Fertility and sterility*. 2006. Vol. 86, nr. 5 Suppl 1, pp. S210-S215. DOI 10.1016/J.FERTNSTERT.2006.08.030. ISSN:1556-5653
13. HAMADA, A.J., ESTEVES, S.C., AGARWAL, A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. In: *Clinics*. 2013. Vol. 68, nr. Suppl 1, pp. 39. DOI 10.6061/CLINICS/2013(SUP01)06. ISSN:1807-5932
14. LEE, J.Y. et al. Role of genetics in azoospermia. In: *Urology*. 2011. Vol. 77, nr. 3, pp. 598-601. DOI 10.1016/J.UROLOGY.2010.10.001. ISSN:1527-9995
15. RACOVITĂ, S. Defects in spermatogenesis of men with Y chromosome microdeletions. In: *MedEspera International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Online. 2020. p. 290-291. [Accessed 19 noiembrie 2022]. ISBN:978-9975-151-11-5. Available from: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/120827](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/120827)



16. GEORGIU, I. et al. Genetic and epigenetic risks of intracytoplasmic sperm injection method. In: *Asian Journal of Andrology*. 2006. Vol. 8, nr. 6, pp. 643-673. DOI 10.1111/j.1745-7262.2006.00231.x. ISSN:1008-682X
17. RACOVITĂ, S. et al. Cytogenetic analysis in men with azoospermia. In: Online. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, 2020. [Accessed 6 octombrie 2022]. Available from: <http://repository.usmf.md/.//handle/20.500.12710/14636>
18. FORTI, G., KRAUSZ, C. Evaluation and Treatment of the Infertile Couple. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001. Vol. 83, nr. 12, pp. 4177-4188. DOI 10.1210/JCEM.83.12.5296. ISSN:0021-972X
19. RACOVITĂ, S. et al. Clinical and genetic evaluation in male infertility. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2022. Vol. 29, nr. 3 An.1, pp. 12-12. ISSN:2345-1467
20. FORESTA, C. et al. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. In: *European Journal of Human Genetics*. 2002. Vol. 10, nr. 5, pp. 303-312. DOI 10.1038/sj.ejhg.5200805. ISSN:1476-5438
21. ROWE, P.J. et al. *WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile male*, Cambridge, UK, Cambridge University Press. 2000. ISBN:0521774748.
22. LARSEN, U. Research on infertility: Which definition should we use? In: *Fertility and Sterility*. 2005. Vol. 83, nr. 4, pp. 846-852. DOI 10.1016/j.fertnstert.2004.11.033. ISSN:0015-0282
23. ZEGERS-HOCHSCHILD, F. et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology. In: *Fertility and Sterility*. 2009. Vol. 92, nr. 5, pp. 1520-1524. DOI 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009. ISSN:0015-0282
24. WOSNITZER, M., GOLDSTEIN, M., HARDY, M.P. Review of Azoospermia. In: *Spermatogenesis*. 2014. Vol. 4, nr. 1, pp. e28218. DOI 10.4161/SPMG.28218. ISSN:2156-5562
25. SAMLI, H. et al. Genetic anomalies detected in patients with non-obstructive azoospermia and oligozoospermia. In: *Archives of Andrology*. 2006. Vol. 52, nr. 4, pp. 263-267. DOI 10.1080/01485010600664032. ISSN:01485016
26. ESTEVES, S.C. et al. What every gynecologist should know about male infertility: an update. In: *Archives of gynecology and obstetrics*. 2012. Vol. 286, nr. 1, pp. 217-229. DOI 10.1007/S00404-012-2274-X. ISSN:1432-0711
27. AZIZ, N., AGARWAL, A. *The Diagnosis and Treatment of Male Infertility*. Springer International Publishing, 2017. ISBN:978-3-319-56545-3.
28. JUNGWIRTH, A. et al. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. In: *European urology*. 2012. Vol. 62, nr. 2, pp. 324-332. DOI 10.1016/J.EURURO.2012.04.048. ISSN:1873-7560
29. KRAUSZ, C. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. In: *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*. 2011. Vol. 25, nr. 2, pp. 271-285. DOI 10.1016/J.BEEM.2010.08.006. ISSN:1878-1594
30. AUSTRALIAN INSTITUTE OF HEALTH AND WELFARE. *The health of Australia's males*. Australian Institute of Health and Welfare, 2011. ISBN:978-1-74249-177-6.
31. GAGAUZ O., STRATAN A. *Analiza situației populației în Republica Moldova*. 2016. ISBN:9789975537407.
32. KUMAR, N., SINGH, A. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. In: *Journal of human reproductive sciences*. 2015. Vol. 8, nr. 4, pp. 191-196. DOI 10.4103/0974-1208.170370. ISSN:0974-1208
33. DOHLE, G.R. et al. EAU guidelines on male infertility. In: *European urology*. 2005.

- Vol. 48, nr. 5, pp. 703-711. DOI 10.1016/J.EURURO.2005.06.002. ISSN:0302-2838
34. MALLEPALY, R. et al. Genetic Basis of Male and Female Infertility. In: *Monographs in Human Genetics*. 2017. Vol. 21, pp. 1-16. DOI 10.1159/000477275. ISSN:0077-0876
  35. TAHMASBPOUR, E., BALASUBRAMANIAN, D., AGARWAL, A. A multi-faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). In: *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2014. p. 1115–1137. ISBN:1081501402806.
  36. HARRIS, I.D. et al. Fertility and the Aging Male. In: *Reviews in Urology*. 2011. Vol. 13, nr. 4, pp. e184. DOI 10.3909/riu0538. ISSN:1523-6161
  37. MOSTAFA, S., SABRA, M., AL-HARBI, M.S. An Influential Relationship of Seminal Fluid Microbial Infections and Infertility, Taif Region, KSA. In: *World Journal of Medical Sciences*. 2014. Vol. 10, nr. 1, pp. 32-37. DOI 10.5829/idosi.wjms.2014.10.1.81235. ISSN:1817-3055
  38. SHARMA, A. Male Infertility; Evidences, Risk Factors, Causes, Diagnosis and Management in Human. In: *Annals of Clinical and Laboratory Research*. Online. 2017. Vol. 5, nr. 3, pp. 188. DOI 10.21767/2386-5180.1000188. ISSN:ISSN No. 2386-5180
  39. LOTTI, F., MAGGI, M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health. In: *Human reproduction update*. 2015. Vol. 21, nr. 1, pp. 56-83. DOI 10.1093/HUMUPD/DMU042. ISSN:1460-2369
  40. BADAR, A. et al. Etiology of male infertility: a review. In: *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*. 2022. Vol. 11, nr. 8, pp. 2320-2328. DOI 10.18203/2320-1770.IJRCOG20221963. ISSN:2320-1789
  41. KRAUSZ, C., GIACHINI, C. Genetic risk factors in male infertility. In: *Archives of andrology*. 2007. Vol. 53, nr. 3, pp. 125-133. DOI 10.1080/01485010701271786. ISSN:0148-5016
  42. DOHLE, G.R. et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. In: *Human reproduction Oxford, England*. 2002. Vol. 17, nr. 1, pp. 13-16. DOI 10.1093/HUMREP/17.1.13. ISSN:0268-1161
  43. O'DONNELL, L., O'BRYAN, M.K. Microtubules and spermatogenesis. In: *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2014. Vol. 30, pp. 45-54. DOI 10.1016/J.SEMCDB.2014.01.003. ISSN:1084-9521
  44. LI, Y. et al. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses. In: *Fertility and sterility*. 2011. Vol. 95, nr. 1, pp. 116-123. DOI 10.1016/J.FERTNSTERT.2010.06.031. ISSN:1556-5653
  45. HWANG, K. et al. Evaluation of the azoospermic male: a committee opinion. In: *Fertility and sterility*. 2018. Vol. 109, nr. 5, pp. 777-782. DOI 10.1016/J.FERTNSTERT.2018.01.043. ISSN:1556-5653
  46. RACOVITA, S. et al. Development of semen quality in male partners of infertile couples in the Republic of Moldova. In: *One Health & Risk Management*. 2020. Vol. 1, nr. 1, pp. 36-41. DOI 10.38045/OHRM.2020.1.06. ISSN:2587-3466
  47. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen FIFTH EDITION. 2010. p. 7-113. ISBN:9789241547789.
  48. BRACKE, A. et al. A search for molecular mechanisms underlying male idiopathic infertility. In: *Reproductive biomedicine online*. 2018. Vol. 36, nr. 3, pp. 327-339. DOI 10.1016/J.RBMO.2017.12.005. ISSN:1472-6491
  49. KRAUSZ, C., RIERA-ESCAMILLA, A. Genetics of male infertility. In: *Nature reviews. Urology*. 2018. Vol. 15, nr. 6, pp. 369-384. DOI 10.1038/S41585-018-0003-3. ISSN:1759-4820
  50. RACOVITA, S. et al. Chromosomal abnormalities in men with azoospermia. In: *Moldovan Medical Journal*. 2021. Vol. 64, nr. 1, pp. 50-55. DOI 10.5281/zenodo.4527139. 51.

- PYLYP, L.Y. et al. Chromosomal abnormalities in patients with oligozoospermia and non-obstructive azoospermia. In: *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2013. Vol. 30, nr. 5, pp. 729-732. DOI 10.1007/S10815-013-9990-4. ISSN:1573-7330
52. DONKER, R.B. et al. Chromosomal abnormalities in 1663 infertile men with azoospermia: the clinical consequences. In: *Human Reproduction*. 2017. Vol. 32, nr. 12, pp. 2574-2580. DOI 10.1093/HUMREP/DEX307. ISSN:0268-1161
  53. LANFRANCO, F. et al. Klinefelter's syndrome. In: *Lancet*. 2004. Vol. 364, nr. 9430, pp. 273-283. DOI 10.1016/S0140-6736(04)16678-6. ISSN:0140-6736
  54. COVIC, M., STEFANESCU, D., SANDOVICI, I. Book. In: *Genetica Medicală*. 2011. p. 750. ISBN:978-973-46-1960-3.
  55. RACOVITĂ, S. et al. Variații cromozomiale la bărbații infertili. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2020. Vol. 67, nr. 3, pp. 78-82. ISSN:1857-0011
  56. TÜTTELMANN, F., GROMOLL, J. Novel genetic aspects of Klinefelter's syndrome. In: *Molecular human reproduction*. 2010. Vol. 16, nr. 6, pp. 386-395. DOI 10.1093/MOLEHR/GAQ019. ISSN:1460-2407
  57. DIEMER, T., DESJARDINS, C. Developmental and genetic disorders in spermatogenesis. In: *Human reproduction update*. 1999. Vol. 5, nr. 2, pp. 120-140. DOI 10.1093/HUMUPD/5.2.120. ISSN:1355-4786
  58. RADICIONI, A.F. et al. Strategies and advantages of early diagnosis in Klinefelter's syndrome. In: *Molecular Human Reproduction*. 2010. Vol. 16, nr. 6, pp. 434-440. DOI 10.1093/MOLEHR/GAQ027. ISSN:1360-9947
  59. KAMISCHKE, A. et al. Clinical and diagnostic features of patients with suspected Klinefelter Syndrome. In: *Journal of Andrology*. 2003. Vol. 24, nr. 1, pp. 41-48. DOI 10.1002/J.1939-4640.2003.TB02638.X. ISSN:1939-4640
  60. RACOVITĂ, S. et al. Polimorfism clinic și variații citogenetice în infertilitatea masculină cauzată de Sindromul Klinefelter. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2018. Vol. 58, nr. 1, pp. 44-48. ISSN:1857-0011
  61. RACOVITA S., SPRINCEAN M., HADJIU, S. Neurological impairment and cytogenetic variations in Klinefelter syndrome. In: *European Journal of Neurology*. 2022. Vol. 29, nr. S1, pp. 906-906. DOI 10.1111/ene.15467. ISSN:1351-5101
  62. ROHAYEM, J. et al. Testicular function during puberty and young adulthood in patients with Klinefelter's syndrome with and without spermatozoa in seminal fluid. In: *Andrology*. 2016. Vol. 4, nr. 6, pp. 1178-1186. DOI 10.1111/ANDR.12249. ISSN:2047-2927
  63. WIKSTRÖM, A.M. et al. Klinefelter syndrome in adolescence: onset of puberty is associated with accelerated germ cell depletion. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004. Vol. 89, nr. 5, pp. 2263-2270. DOI 10.1210/JC.2003-031725. ISSN:0021-972X
  64. MURAKAMI, K. et al. Identification of the chromatin regions coated by non-coding Xist RNA. In: *Cytogenetic and genome research*. 2009. Vol. 125, nr. 1, pp. 19-25. DOI 10.1159/000207514. ISSN:1424-859X
  65. BELLING, K. et al. Klinefelter syndrome comorbidities linked to increased X chromosome gene dosage and altered protein interactome activity. In: *Human molecular genetics*. 2017. Vol. 26, nr. 7, pp. 1219-1229. DOI 10.1093/HMG/DDX014. ISSN:1460-2083
  66. MA, Y. et al. Aberrant Gene Expression Profiles in Pluripotent Stem Cells Induced from Fibroblasts of a Klinefelter Syndrome Patient. In: *The Journal of Biological Chemistry*. 2012. Vol. 287, nr. 46, pp. 38970. DOI 10.1074/JBC.M112.380204. ISSN:0021-9258
  67. NIESCHLAG, E. et al. New approaches to the Klinefelter syndrome. In: *Annales d'endocrinologie*. 2014. Vol. 75, nr. 2, pp. 88-97. DOI 10.1016/J.ANDO.2014.03.007. ISSN:2213-3941
  68. OKAMOTO, I. et al. Evidence for de novo imprinted X-chromosome inactivation

- independent of meiotic inactivation in mice. In: *Nature* 2005 438:7066. 2005. Vol. 438, nr. 7066, pp. 369-373. DOI 10.1038/nature04155. ISSN:1476-4687
69. VERNAEVE, V. et al. Can biological or clinical parameters predict testicular sperm recovery in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients? In: *Human Reproduction*. 2004. Vol. 19, nr. 5, pp. 1135-1139. DOI 10.1093/HUMREP/DEH253. ISSN:0268-1161
  70. LEJEUNE, H. et al. Fertility in Klinefelter syndrome. In: *Presse medicale Paris, France*. 2014. Vol. 43, nr. 2, pp. 162-170. DOI 10.1016/J.LPM.2013.12.002. ISSN:2213-0276
  71. CHEHRAZI, M. et al. Sperm Retrieval in Patients with Klinefelter Syndrome: A Skewed Regression Model Analysis. In: *International Journal of Fertility & Sterility*. 2017. Vol. 11, nr. 2, pp. 117. DOI 10.22074/IJFS.2017.4702. ISSN:2008-0778
  72. FERHI, K. et al. Age as only predictive factor for successful sperm recovery in patients with Klinefelter's syndrome. In: *Andrologia*. 2009. Vol. 41, nr. 2, pp. 84-87. DOI 10.1111/J.1439-0272.2008.00875.X. ISSN:1439-0272
  73. MADGAR, I. et al. Prognostic value of the clinical and laboratory evaluation in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome who are receiving assisted reproductive therapy. In: *Fertility and sterility*. 2002. Vol. 77, nr. 6, pp. 1167-1169. DOI 10.1016/S0015-0282(02)03092-3. ISSN:0015-0282
  74. MADURO, M.R., LAMB, D.J. Understanding new genetics of male infertility. In: *The Journal of urology*. 2002. Vol. 168, nr. 5, pp. 2197-2205. DOI 10.1097/07.JU.0000023290.61978.B2. ISSN:0022-5347
  75. ANIK, A. et al. 46,XX Male Disorder of Sexual Development: A Case Report. In: *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2013. Vol. 5, nr. 4, pp. 258. DOI 10.4274/JCRPE.1098. ISSN:1308-5727
  76. RACOVITĂ, S. et al. Bărbat 46,XX, raport de caz clinic. In: *Buletin de Perinatologie*. 2019. Vol. 83, nr. 2, pp. 104-107. ISSN:1810-5289
  77. PARMA, P. et al. R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. In: *Nature genetics*. 2006. Vol. 38, nr. 11, pp. 1304-1309. DOI 10.1038/NG1907. ISSN:1061-4036
  78. ZENTENO-RUIZ, J.C., KOFMAN-ALFARO, S., MÉNDEZ, J.P. 46, XX sex reversal. In: *Archives of Medical Research*. 2001. Vol. 32, nr. 6, pp. 559-566. DOI 10.1016/S0188-4409(01)00322-8. ISSN:0188-4409
  79. VORONA, E. et al. Clinical, Endocrinological, and Epigenetic Features of the 46,XX Male Syndrome, Compared with 47,XXY Klinefelter Patients. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007. Vol. 92, nr. 9, pp. 3458-3465. DOI 10.1210/JC.2007-0447. ISSN:0021-972X
  80. AKINSAL, E.C. et al. A Rare Cause of Male Infertility: 45,X/46,XY Mosaicism. In: *Urologia internationalis*. 2018. Vol. 101, nr. 4, pp. 481-485. DOI 10.1159/000484615. ISSN:1423-0399
  81. TOSSON, H., ROSE, S.R., GARTNER, L.A. Description of children with 45,X/46,XY karyotype. In: *European journal of pediatrics*. 2012. Vol. 171, nr. 3, pp. 521-529. DOI 10.1007/S00431-011-1600-9. ISSN:1432-1076
  82. FLANNIGAN, R.K. et al. 45,X/46,XY mixed gonadal dysgenesis: A case of successful sperm extraction. In: *Canadian Urological Association journal*. 2014. Vol. 8, nr. 1, pp. 108-110. DOI 10.5489/CUAJ.1574. ISSN:1911-6470
  83. KILIC, S. et al. Assisted reproductive treatment applications in men with normal phenotype but 45,X/46,XY mosaic karyotype: Clinical and genetic perspectives. In: *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010. Vol. 49, nr. 2, pp. 199-202. DOI 10.1016/S1028-4559(10)60042-3. ISSN:1028-4559
  84. EL-DAHTORY, F., ELSHEIKHA, H.M. Male infertility related to an aberrant karyotype, 47,XYY: four case reports. In: *Cases journal*. 2009. Vol. 2, nr. 1. DOI 10.1186/1757-1626-

- 2-28. ISSN:1757-1626
85. BORJIAN BOROUJENI, P. et al. Clinical aspects of infertile 47,XYY patients: a retrospective study. In: *Human Fertility*. 2019. Vol. 22, nr. 2, pp. 88-93. DOI 10.1080/14647273.2017.1353143. ISSN:1742-8149
  86. RACOVITȚĂ, S. et al. Sindromul 47,XYY asociat cu infertilitatea masculină: raport de caz clinic. In: *Buletin de Perinatologie*. 2020. Vol. 86, nr. 1, pp. 112-115. ISSN:1810-5289
  87. LATRECH, H. et al. Disorder of Sexual Development and Congenital Heart Defect in 47XYY: Clinical Disorder or Coincidence? In: *Case Reports in Endocrinology*. 2015. Vol. 2015, pp. 1-5. DOI 10.1155/2015/802162. ISSN:2090-651X
  88. JO, W.H. et al. XYY syndrome: a 13-year-old boy with tall stature. In: *Annals of pediatric endocrinology & metabolism*. 2015. Vol. 20, nr. 3, pp. 170-173. DOI 10.6065/APEM.2015.20.3.170. ISSN:2287-1012
  89. BORJIAN BOROUJENI, P. et al. Clinical aspects of infertile 47,XYY patients: a retrospective study. In: *Human fertility Cambridge, England*. 2019. Vol. 22, nr. 2, pp. 88-93. DOI 10.1080/14647273.2017.1353143. ISSN:1742-8149
  90. VENKATESHWARI, A. et al. De novo chromosomal translocation t(3;5)(q13;q35) in an infertile man. In: *Andrologia*. 2011. Vol. 43, nr. 6, pp. 428-430. DOI 10.1111/J.1439-0272.2010.01069.X. ISSN:1439-0272
  91. FERLIN, A. et al. Molecular and Clinical Characterization of Y Chromosome Microdeletions in Infertile Men: A 10-Year Experience in Italy. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007. Vol. 92, nr. 3, pp. 762-770. DOI 10.1210/JC.2006-1981. ISSN:0021-972X
  92. BRAUN-FALCO, M. et al. Azoospermia due to a unique de novo balanced reciprocal translocation (Y;1) (q12;q25). In: *Journal of andrology*. 2007. Vol. 28, nr. 5, pp. 647-651. DOI 10.2164/JANDROL.106.002030. ISSN:0196-3635
  93. HARTON, G.L., TEMPEST, H.G. Chromosomal disorders and male infertility. In: *Asian journal of andrology*. 2012. Vol. 14, nr. 1, pp. 32-39. DOI 10.1038/AJA.2011.66. ISSN:1745-7262
  94. FERGUSON, K.A., CHOW, V., MA, S. Silencing of unpaired meiotic chromosomes and altered recombination patterns in an azoospermic carrier of a t(8;13) reciprocal translocation. In: *Human reproduction Oxford, England*. 2008. Vol. 23, nr. 4, pp. 988-995. DOI 10.1093/HUMREP/DEN013. ISSN:1460-2350
  95. TEMPEST, H.G., SIMPSON, J.L. Role of preimplantation genetic diagnosis (PGD) in current infertility practice. In: *International Journal of Infertility and Fetal Medicine*. 2010. Vol. 1, nr. 1, pp. 1-10. DOI 10.5005/JP-JOURNALS-10016-1001. ISSN:2229-3833
  96. DONG, Y. et al. Impact of chromosomal translocations on male infertility, semen quality, testicular volume and reproductive hormone levels. In: *The Journal of international medical research*. 2012. Vol. 40, nr. 6, pp. 2274-2283. DOI 10.1177/030006051204000625. ISSN:1473-2300
  97. GHEVARIA, H. et al. Meiotic outcome in two carriers of Y autosome reciprocal translocations: selective elimination of certain segregants. In: *Molecular Cytogenetics*. 2017. Vol. 10, nr. 1, pp. 1-8. DOI 10.1186/S13039-017-0303-Y/TABLES/5. ISSN:1755-8166
  98. SONG, J. et al. A family with Robertsonian translocation: A potential mechanism of speciation in humans. In: *Molecular Cytogenetics*. 2016. Vol. 9, nr. 1, pp. 1-7. DOI 10.1186/S13039-016-0255-7/TABLES/3. ISSN:1755-8166
  99. LIANG, S. et al. Effects of chromosome 9 inversion on IVF/ICSI: A 7-year retrospective cohort study. In: *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2019. Vol. 7, nr. 9, pp. e856. DOI 10.1002/MGG3.856. ISSN:2324-9269
  100. MOZDARANI, H., MEYBODI, A.M., KARIMI, H. Impact of pericentric inversion of

- Chromosome 9 [inv (9) (p11q12)] on infertility. In: *Indian journal of human genetics*. 2007. Vol. 13, nr. 1, pp. 26-9. DOI 10.4103/0971-6866.32031. ISSN:0971-6866
101. MUTHUVEL, A. et al. Pericentric inversion of chromosome 9 causing infertility and subsequent successful in vitro fertilization. In: *Nigerian Medical Journal*. 2016. Vol. 57, nr. 2, pp. 142. DOI 10.4103/0300-1652.182080. ISSN:0300-1652
  102. LI, S.J. et al. Chromosomal polymorphisms associated with reproductive outcomes after IVF-ET. In: *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2020. Vol. 37, nr. 7, pp. 1703-1710. DOI 10.1007/S10815-020-01793-8. ISSN:1573-7330
  103. HOTALING, J., CARRELL, D.T. Clinical genetic testing for male factor infertility: Current applications and future directions. In: *Andrology*. 2014. Vol. 2, nr. 3, pp. 339-350. DOI 10.1111/j.2047-2927.2014.00200.x. ISSN:2047-2927
  104. CIOPPI, F., ROSTA, V., KRAUSZ, C. Genetics of azoospermia. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, nr. 6. DOI 10.3390/ijms22063264. ISSN:14220067
  105. HARGREAVE, T.B. Genetic basis of male fertility. In: *British medical bulletin*. 2000. Vol. 56, nr. 3, pp. 650-671. DOI 10.1258/0007142001903454. ISSN:0007-1420
  106. VOGT, P.H. et al. Polymorphic DAZ gene family in polymorphic structure of AZFc locus: Artwork or functional for human spermatogenesis? In: *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*. 2003. Vol. 111, nr. 1, pp. 115-127. DOI 10.1034/J.1600-0463.2003.11101161.X. ISSN:0903-4641
  107. FERLIN, A., ARREDI, B., FORESTA, C. Genetic causes of male infertility. In: *Reproductive Toxicology*. 2006. Vol. 22, nr. 2, pp. 133-141. DOI 10.1016/J.REPROTOX.2006.04.016. ISSN:0890-6238
  108. SIMONI, M., BAKKER, E., KRAUSZ, C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. In: *International journal of andrology*. 2004. Vol. 27, nr. 4, pp. 240-249. DOI 10.1111/J.1365-2605.2004.00495.X. ISSN:0105-6263
  109. STAHL, P.J. et al. A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia. In: *Fertility and sterility*. 2010. Vol. 94, nr. 5, pp. 1753-1756. DOI 10.1016/J.FERTNSTERT.2009.09.006. ISSN:1556-5653
  110. EL-DAHTORY, F. Genetic aspects of infertility in men with azospermia. In: *International Research Journal of Natural and Applied Sciences*. 2015. Vol. 2, nr. 4, pp. 198-211. DOI ISSN: 2349-4077. ISSN:
  111. LI, D. et al. Chromosomal abnormalities in men with pregestational and gestational infertility in northeast China. In: *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2012. Vol. 29, nr. 8, pp. 829-836. DOI 10.1007/S10815-012-9783-1. ISSN:1058-0468
  112. AFRICAN ASSOCIATION, U. et al. Azoospermia factor microdeletion in infertile men with idiopathic severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia. In: *African Journal of Urology*. 2016. Vol. 21, nr. 4, pp. 246–253. DOI 10.4314/aju.v21i1. ISSN:1110-5704
  113. SELVA, D.M., HAMMOND, C.L. Human sex hormone-binding globulin is expressed in testicular germ cells and not in sertoli cells. In: *Hormone and metabolic research*. 2006. Vol. 38, nr. 4, pp. 230-235. DOI 10.1055/S-2006-925336. ISSN:0018-5043
  114. SELVA, D.M. et al. A human sex hormone-binding globulin isoform accumulates in the acrosome during spermatogenesis. In: *The Journal of biological chemistry*. 2002. Vol. 277, nr. 47, pp. 45291-45298. DOI 10.1074/JBC.M205903200. ISSN:0021-9258
  115. LUDDI, A. et al. Spermatogenesis in a man with complete deletion of USP9Y. In: *The New England journal of medicine*. 2009. Vol. 360, nr. 9, pp. 881-885. DOI 10.1056/NEJMOA0806218. ISSN:1533-4406
  116. FORESTA, C., MORO, E., FERLIN, A. Y Chromosome Microdeletions and Alterations of

- Spermatogenesis. In: *Endocrine Reviews*. 2001. Vol. 22, nr. 2, pp. 226-239. DOI 10.1210/EDRV.22.2.0425. ISSN:0163-769X
117. RACOVITA, S., SPRINCEAN, M., MOSIN, V. Decline of semen quality among males consulted for couple infertility in the Republic of Moldova. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2022. Vol. 57, nr. 2, pp. 152-162. DOI 10.31688/ABMU.2022.57.2.04. ISSN:1584-9244
  118. SPRINCEAN M. et al. Aspecte ale diagnosticului timpuriu și particularitățile polimorfismului clinic și citogenetic în sindromul Klinefelter. In: *Analele Științifice ale USMF „N. Testemițanu”*. 2013. Vol. 14, nr. 5, pp. 426-433. ISSN:1857-1719
  119. CEBAN, E. *UROLOGIE ANDROLOGIE NEFROLOGIE CHIRURGICALĂ*. Universul, 2020. ISBN:978-9975-47-185-5.
  120. RACOVITĂ, S. et al. Neurogenetic aspects in men with Klinefelter syndrome. In: *Abstract Moldovan Medical Journal*. 2021. Vol. 64, nr. Neuro congress, pp. 55.
  121. KAILASH, Y., RAHEEM, A.A., HOMA, S.T. How Successful Is Surgical Sperm Retrieval in Klinefelter Syndrome? In: *Frontiers in reproductive health*. 2021. Vol. 3, pp. 1-8. DOI 10.3389/FRPH.2021.636629. ISSN:2673-3153
  122. ARIAN, I. et al. Histological and immunohistochemical outcomes after microdissection TESE in contrast with hormonal profile, testis volume and genetics in patients with azoospermia. In: *JOURNAL of MEDICINE and LIFE*. 2023. Vol. 16, nr. 1, pp. 144-152. DOI 10.25122/jml-2022-0336.
  123. RIZK, B., AGARWAL, A., EDMUND S. SABANEGH, J. *Male Infertility in Reproductive Medicine Diagnosis and Management*. 2020. ISBN:9781138599291.
  124. FLANNIGAN, R., SCHLEGEL, P.N. Genetic diagnostics of male infertility in clinical practice. In: *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2017. Vol. 44, pp. 26-37. DOI 10.1016/J.BPOBGYN.2017.05.002. ISSN:1521-6934
  125. KIM, I.W. et al. 47,XYY Syndrome and Male Infertility. In: *Reviews in Urology*. 2013. Vol. 15, nr. 4, pp. 188. DOI 10.3909/riu0580. ISSN:1523-6161
  126. AKINSAL, E.C. et al. Ten cases with 46,XX testicular disorder of sex development: single center experience. In: *International Brazilian Journal of Urology*. 2017. Vol. 43, nr. 4, pp. 770. DOI 10.1590/S1677-5538.IBJU.2016.0505. ISSN:1677-6119
  127. DOMINGUEZ-LOPEZ, M. et al. Clinical case report: male patient with SRY-positive 46,XX testicular disorder of sex development. In: *Endocrine Abstracts*. 2013. Vol. 32, pp. 288. DOI 10.1530/ENDOABS.32.P288. ISSN:1470-3947
  128. RACOVITĂ, S. et al. Cytogenetic study in male infertility associated with azoospermia and severe oligospermia. In: *Abstract book, International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova*. Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, 2021. p. 32. ISBN:978-9975-933-56-8.
  129. YAHAYA, T.O. et al. Chromosomal abnormalities predisposing to infertility, testing, and management: a narrative review. In: *Bulletin of the National Research Centre*. 2021. Vol. 45, nr. 1, pp. 1-15. DOI 10.1186/S42269-021-00523-Z. ISSN:2522-8307
  130. RACOVITĂ, S. et al. Clinical and genetic study in male infertility with azoospermia. In: *Abstract book*. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, 2021. p. 393. ISBN:978-9975-82-223-7.
  131. RACOVITĂ, S. et al. Particularități clinico-genetice în infertilitatea masculină. In: *Revista de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și Adolescentului din România*. 2019. Vol. 25, nr. 3, pp. 61-70. ISSN:2068-8040
  132. KILIC, S. et al. Assisted reproductive treatment applications in men with normal phenotype but 45,X/46,XY mosaic karyotype: clinical and genetic perspectives. In: *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*. 2010. Vol. 49, nr. 2, pp. 199-202. DOI 10.1016/S1028-4559(10)60042-3. ISSN:1875-6263

133. ÖZDEMİR, T.R. et al. Evaluation of chromosomal abnormalities and Y-chromosome microdeletions in 1696 Turkish cases with primary male infertility: A single-center study. In: *Turkish Journal of Urology*. 2020. Vol. 46, nr. 2, pp. 95. DOI 10.5152/TUD.2019.19156. ISSN:2149-3057
134. XIE, X. et al. Analysis of the clinical features of pericentric inversion of chromosome 9. In: *Journal of International Medical Research*. 2020. Vol. 48, nr. 9, pp. 1-9. DOI 10.1177/0300060520957820. ISSN:1473-2300
135. KATE, U. V. et al. Chromosomal Aberrations and Polymorphic Evaluation in Males with Primary Infertility from Indian Population. In: *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014. Vol. 8, nr. 10, pp. SC01-SC06. DOI 10.7860/JCDR/2014/8644.4933. ISSN:0973-709X
136. RACOVITA, S. et al. Y chromosome microdeletions in men with severe spermatogenic defects. In: *International Journal of Current Research*. 2021. Vol. 13, nr. 03, pp. 16428-16433. DOI 10.24941/ijcr.40899.03.2021.
137. ELSAID, H.O.A. et al. Detection of AZF microdeletions and reproductive hormonal profile analysis of infertile sudanese men pursuing assisted reproductive approaches. In: *BMC Urology*. 2021. Vol. 21, nr. 1, pp. 1-9. DOI 10.1186/s12894-021-00834-3. ISSN:1471-2490
138. KIM, S.Y. et al. Y Chromosome Microdeletions in Infertile Men with Non-obstructive Azoospermia and Severe Oligozoospermia. In: *Journal of Reproduction & Infertility*. Online. 2017. Vol. 18, nr. 3, pp. 307. [Accessed 31 iulie 2022]. Available from: /pmc/articles/PMC5641440/ISSN:2251676X
139. MORTON, C.C., LEE, C. Cytogenetics in Reproduction. In: *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology*. 2009. P. 777-799. DOI 10.1016/B978-1-4160-4907-4.00031-0.
140. AMBULKAR, P.S. et al. Genetic Risk of Azoospermia Factor (AZF) Microdeletions in Idiopathic Cases of Azoospermia and Oligozoospermia in Central Indian Population. In: *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*. 2014. Vol. 8, nr. 3, pp. 88. DOI 10.7860/JCDR/2014/7680.4116. ISSN:2249-782X
141. COLACO, S., MODI, D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. In: *Reproductive Biology and Endocrinology 2018*. 2018. Vol. 16, nr. 1, pp. 1-24. DOI 10.1186/S12958-018-0330-5. ISSN:1477-7827
142. CHOI, D.K. et al. Detection of Y chromosome microdeletion is valuable in the treatment of patients with nonobstructive azoospermia and oligoasthenoteratozoospermia: Sperm retrieval rate and birth rate. In: *Korean Journal of Urology*. 2013. Vol. 54, nr. 2, pp. 111-116. DOI 10.4111/KJU.2013.54.2.111. ISSN:2005-6737
143. KRAUSZ, C., CIOPPI, F., RIERA-ESCAMILLA, A. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. In: *Expert review of molecular diagnostics*. 2018. Vol. 18, nr. 4, pp. 331-346. DOI 10.1080/14737159.2018.1453358. ISSN:1744-8352
144. NAILWAL, M., CHAUHAN, J. Azoospermia Factor C Subregion of the Y Chromosome. In: *Journal of human reproductive sciences*. 2017. Vol. 10, nr. 4, pp. 256-260. DOI 10.4103/JHRS.JHRS\_16\_17. ISSN:0974-1208
145. CHEN, H. et al. Regulation of male fertility by CFTR and implications in male infertility. In: *Human reproduction update*. noiembrie 2012. Vol. 18, nr. 6, pp. 703-713. DOI 10.1093/HUMUPD/DMS027. ISSN:1460-2369
146. MEHDIZADEH HAKKAK, A. et al. Analysis of CFTR Gene Mutations in Children with Cystic Fibrosis, First Report from North-East of Iran. In: *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2013. Vol. 16, nr. 8, pp. 917. ISSN:20083866
147. DE SOUZA, D.A.S. et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens as an atypical form of cystic fibrosis: reproductive implications and genetic counseling. In: *Andrology*. 2018. Vol. 6, nr. 1, pp. 127-135. DOI 10.1111/ANDR.12450. ISSN:2047-2927



148. SEMIÃO-FRANCISCO, L. et al. Assisted reproductive technology outcomes in azoospermic men: 10 years of experience with surgical sperm retrieval. In: *The Aging Male*. 2010. Vol. 13, nr. 1, pp. 44-50. DOI 10.3109/13685530903342203. ISSN:1368-5538
149. CARIATI, F., D'ARGENIO, V., TOMAIUOLO, R. The evolving role of genetic tests in reproductive medicine. In: *Journal of Translational Medicine*. 2019. Vol. 17, nr. 1, pp. 1-33. DOI 10.1186/s12967-019-2019-8. ISSN:1479-5876
150. DE GEYTER, C., MOSIN V. ART in Europe, 2014: Results generated from European registries by ESHRE. In: *Human Reproduction*. 2018. Vol. 33, nr. 9, pp. 1586-1601. DOI 10.1093/HUMREP/DEY242. ISSN:1460-2350
151. SPRINCEAN M. et al. Role of medico-genetic counseling and prenatal screening in diagnosis of renal urinary pathology in fetus. In: *Buletin de Perinatologie*. 2020. Vol. 87, nr. 2, pp. 32-37. ISSN:1810-5289
152. COZARU, G.C., BUTNARIU, L.I., GORDUZA, E.V. Genetic counselling in reproductive disorders. In: *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. 2012. Vol. 33, pp. 213-217. DOI 10.1016/J.SBSPRO.2012.01.114. ISSN:1877-0428
153. SPRINCEAN M. Medical-genetic counseling in the light of global biotechnology progress. In: *Current Opinion in Biotechnology*. 2013. Vol. 24, nr. 1 Supplement, pp. 37. DOI 10.1016/J.COPBIO.2013.05.072. ISSN:0958-1669
154. KURODA, S. et al. Genetic disorders and male infertility. In: *Reproductive Medicine and Biology*. 2020. Vol. 19, nr. 4, pp. 314-322. DOI 10.1002/rmb2.12336. ISSN:14470578
155. WITHERSPOON, L., DERGHAM, A., FLANNIGAN, R. Y-microdeletions: a review of the genetic basis for this common cause of male infertility. In: *Translational Andrology and Urology*. 2021. Vol. 10, nr. 3, pp. 1383-1390. DOI 10.21037/TAU-19-599. ISSN:2223-4691
156. KOHN, T.P. et al. Genetic counseling for men with recurrent pregnancy loss or recurrent implantation failure due to abnormal sperm chromosomal aneuploidy. In: *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2016. Vol. 33, nr. 5, pp. 571. DOI 10.1007/S10815-016-0702-8. ISSN:15737330
157. MOSKOWITZ, S.M. et al. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. In: *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*. 2008. Vol. 10, nr. 12, pp. 851-868. DOI 10.1097/GIM.0B013E31818E55A2. ISSN:1530-0366
158. NALLELLA, K.P. et al. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. In: *Fertility and Sterility*. 2006. Vol. 85, nr. 3, pp. 629-634. DOI 10.1016/j.fertnstert.2005.08.024. ISSN:0015-0282
159. REDMON, J.B. et al. Semen parameters in fertile US men: The Study for Future Families. In: *Andrology*. 2013. Vol. 1, nr. 6, pp. 806-814. DOI 10.1111/j.2047-2927.2013.00125.x. ISSN:2047-2919
160. ESTEVES, S.C. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. In: *International Brazilian Journal of Urology*. 2014. Vol. 40, nr. 4, pp. 443-453. DOI 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.04.02. ISSN:1677-6119
161. DE JONGE, C., BARRATT, C.L.R. The present crisis in male reproductive health: an urgent need for a political, social, and research roadmap. In: *Andrology*. 2019. Vol. 7, nr. 6, pp. 762-768. DOI 10.1111/andr.12673. ISSN:20472927
162. LACKNER, J. et al. Constant decline in sperm concentration in infertile males in an urban population: experience over 18 years. In: *Fertility and sterility*. 2005. Vol. 84, nr. 6, pp. 1657-1661. DOI 10.1016/J.FERTNSTERT.2005.05.049. ISSN:1556-5653
163. MISHRA, P. et al. Decline in seminal quality in Indian men over the last 37 years. In: *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2018. Vol. 16, nr. 1. DOI 10.1186/s12958-018-

- 0425-z. ISSN:1477-7827
164. GEOFFROY-SIRAUDIN, C. et al. Decline of semen quality among 10 932 males consulting for couple infertility over a 20-year period in Marseille, France. In: *Asian journal of andrology*. 2012. Vol. 14, nr. 4, pp. 584-590. DOI 10.1038/AJA.2011.173. ISSN:1745-7262
  165. LOUIS, J.F. et al. The prevalence of couple infertility in the United States from a male perspective: evidence from a nationally representative sample. In: *Andrology*. 2013. Vol. 1, nr. 5, pp. 741-748. DOI 10.1111/J.2047-2927.2013.00110.X. ISSN:2047-2927
  166. ARIAN I, DUMBRĂVEANU I. Seminal quality decline-the challenge of the new millenium. In: *Arta Medica*. 2019. Vol. 1, nr. 70, pp. 98-102. ISSN:1810-1852.
  167. JØRGENSEN, N. et al. Regional differences in semen quality in Europe. In: *Human reproduction Oxford, England*. 2001. Vol. 16, nr. 5, pp. 1012-1019. DOI 10.1093/HUMREP/16.5.1012. ISSN:0268-1161
  168. FEKI, N.C. et al. Semen quality decline among men in infertile relationships: experience over 12 years in the South of Tunisia. In: *Journal of andrology*. 2009. Vol. 30, nr. 5, pp. 541-547. DOI 10.2164/JANDROL.108.005959. ISSN:1939-4640
  169. PYLYP, L.Y. et al. Chromosomal abnormalities in patients with oligozoospermia and non-obstructive azoospermia. In: *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2013. Vol. 30, nr. 5, pp. 729-732. DOI 10.1007/S10815-013-9990-4. ISSN:1058-0468
  170. MIERLA, D., JARDAN, D., STOIAN, V. Chromosomal Abnormality in Men with Impaired Spermatogenesis. In: *International Journal of Fertility & Sterility*. 2014. Vol. 8, nr. 1, pp. 35. ISSN:2008-0778
  171. KOVACHEVA, K. et al. Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Bulgarian male with azoospermia or severe oligospermia. In: *Journal of IMAB – Annual Proceeding Scientific Papers*. 2018. Vol. 24, nr. 4, pp. 2217-2222. DOI 10.5272/JIMAB.2018244.2217. ISSN:1312-773X
  172. BELLOVITS, O. et al. Chromosomal Aneuploidy in Azoospermic Men. In: *International Journal of Human Genetics*. 2006. Vol. 6, nr. 2, pp. 171-176. DOI 10.1080/09723757.2006.11885959. ISSN:0972-3757
  173. DUL, E.C. et al. The prevalence of chromosomal abnormalities in subgroups of infertile men. In: *Human Reproduction*. 2012. Vol. 27, nr. 1, pp. 36-43. DOI 10.1093/HUMREP/DER374. ISSN:0268-1161
  174. AKBARZADEH-KHIAVI, M. et al. Karyotypic abnormalities and molecular analysis of Y chromosome microdeletion in Iranian Azeri Turkish population infertile men. In: *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2020. Vol. 66, nr. 2, pp. 140-146. DOI 10.1080/19396368.2019.1682083. ISSN:1939-6376
  175. KOŞAR, P.A., ÖZÇELİK, N., KOŞAR, A. Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. In: *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2010. Vol. 27, nr. 1, pp. 17-21. DOI 10.1007/S10815-009-9366-Y. ISSN:1573-7330
  176. NAASSE, Y. et al. Chromosomal abnormalities and y chromosome microdeletions in infertile men from Morocco Sexual function and fertility. In: *BMC Urology*. 2015. Vol. 15, nr. 1, pp. 1-6. DOI 10.1186/S12894-015-0089-3/TABLES/5. ISSN:1471-2490
  177. FU, L. et al. Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men. In: *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2012. Vol. 29, nr. 6, pp. 521-527. DOI 10.1007/S10815-012-9741-Y. ISSN:1573-7330
  178. YATSENKO, A.N. et al. Comprehensive 5-Year Study of Cytogenetic Aberrations in 668 Infertile Men. In: *Journal of Urology*. 2010. Vol. 183, nr. 4, pp. 1636-1642. DOI 10.1016/J.JURO.2009.12.004. ISSN:0022-5347
  179. MAFRA, F.A. et al. Chromosomal and molecular abnormalities in a group of Brazilian

- infertile men with severe oligozoospermia or non-obstructive azoospermia attending an infertility service. In: *International journal of the Brazilian Society of Urology*. 2011. Vol. 37, nr. 2, pp. 244-250. DOI 10.1590/S1677-55382011000200011. ISSN:1677-6119
180. RAO, K.L. et al. Prevalence of chromosome defects in azoospermic and oligoasthenoteratozoospermic South Indian infertile men attending an infertility clinic. In: *Reproductive BioMedicine*. 2005. Vol. 10, nr. 4, pp. 467-472. DOI 10.1016/S1472-6483(10)60822-X. ISSN:1472-6483
181. PETERLIN, B. et al. Screening for Y chromosome microdeletions in 226 Slovenian subfertile men. In: *Human Reproduction*. 2002. Vol. 17, nr. 1, pp. 17-24. DOI 10.1093/HUMREP/17.1.17. ISSN:0268-1161
182. DUTTA, S. et al. Prevalence of Y chromosome microdeletion in azoospermia factor subregions among infertile men from West Bengal, India. In: *Molecular genetics & genomic medicine*. 2021. Vol. 9, nr. 10, pp. 1-10. DOI 10.1002/MGG3.1769. ISSN:2324-9269
183. KIM, S.Y. et al. Y Chromosome Microdeletions in Infertile Men with Non-obstructive Azoospermia and Severe Oligozoospermia. In: *Journal of Reproduction & Infertility*. 2017. Vol. 18, nr. 3, pp. 307. ISSN:2251-676X
184. IACOBELLI, D. et al. Incidence of Y chromosome microdeletions and microdissection testicular sperm extraction (micro TESE) in patients with Japanese azoospermic patients. In: *Human Reproduction*. 2022. Vol. 37, nr. Supplement\_1, pp. 23-24. DOI 10.1093/HUMREP/DEAC105.126. ISSN:0268-1161

**Anexa 1. Rezultatele volumului, pH, concentrației și nr. total de spermatozoizi, perioada anilor 2012-2020**

Nr. Abs.	Anul									Total
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Nr. Abs.	200	703	852	794	703	685	630	640	560	5767
<b>Volum (ml)</b>	<i>F=12,1; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=73,4; gl=8; p=0,000</i>									
Media	3,0	3,2	2,9	2,8	2,8	2,9	2,8	2,8	2,7	2,9
Devierea Standard	1,2	1,3	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0	1,0	1,1
Î 95%-	2,8	3,1	2,8	2,7	2,7	2,8	2,7	2,8	2,6	2,8
Î 95%+	3,2	3,3	3,0	2,8	2,9	3,0	2,9	2,9	2,8	2,9
Mediana	3,0	3,2	2,9	2,8	2,8	2,8	2,8	2,9	2,7	2,9
Percentila 25	2,2	2,3	2,2	2,1	2,1	2,2	2,2	2,3	2,1	2,2
Percentila 75	3,7	3,8	3,5	3,4	3,5	3,5	3,5	3,5	3,4	3,5
<b>pH</b>	<i>F=10,8; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=197,6; gl=8; p=0,000</i>									
Media	7,8	7,8	7,9	7,8	7,8	7,9	7,8	7,8	7,8	7,8
Devierea Standart	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Î 95%-	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
Î 95%+	7,9	7,8	7,9	7,8	7,8	7,9	7,8	7,8	7,8	7,8
Mediana	7,8	7,8	7,9	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
Percentila 25	7,7	7,7	7,8	7,7	7,8	7,8	7,8	7,8	7,7	7,7
Percentila 75	8,0	7,9	8,0	7,9	7,9	8,0	7,9	7,9	7,8	7,9
<b>Concentrația spermatozoizilor (mln/ml)</b>	<i>F=23,0; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=146,3; gl=8; p=0,000</i>									
Media	48,6	49,9	43,2	41,7	36,3	33,4	33,6	33,6	34,7	39,0
Devierea Standart	38,1	37,0	34,0	34,8	31,7	29,2	32,5	29,7	29,1	33,3
Î 95%-	43,3	47,2	40,9	39,2	33,9	31,2	31,1	31,3	32,3	38,2
Î 95%+	53,9	52,7	45,5	44,1	38,6	35,5	36,2	35,9	37,1	39,9
Mediana	41,0	44,0	35,0	30,0	26,0	25,0	23,0	24,0	26,0	29,0
Percentila 25	12,5	17,0	13,0	11,0	9,0	9,0	8,0	9,0	11,0	11,0
Percentila 75	78,0	79,0	73,5	72,0	58,0	53,0	49,0	52,0	52,0	64,0
<b>Nr. total de spermatozoizi (mln/ejaculat)</b>	<i>F=28,6; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=161,0; gl=8; p=0,000</i>									
Media	142,5	157,2	125,1	115,8	100,5	96,2	93,8	95,0	93,4	112,1
Devierea Standart	125,9	133,9	114,9	113,6	97,8	95,5	96,4	95,7	88,1	109,3
Î 95%-	124,9	147,3	117,4	107,9	93,3	89,0	86,2	87,6	86,1	109,2
Î 95%+	160,0	167,1	132,8	123,7	107,8	103,3	101,3	102,5	100,8	114,9
Mediana	110,5	125,4	87,5	77,9	67,5	62,1	59,5	64,0	66,5	74,5
Percentila 25	39,3	45,0	30,6	25,2	24,0	25,3	22,0	24,4	27,2	27,2
Percentila 75	231,6	242,5	198,4	180,6	155,2	136,4	136,3	139,5	136,2	168,0

## Anexa 2. Rezultatele mobilității spermatozoidelor pe perioada anilor 2012-2020

	Anul									
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Total
Nr. Abs.	200	703	852	794	703	685	630	640	560	5767
<b>Mobilitatea progresivă (%)</b>	<i>F=16,2; p=0,000 KW X<sup>2</sup>= 124,4; gl=8; p=0,000</i>									
Media	35,3	36,3	32,9	32,2	30,0	28,6	28,1	28,6	29,4	31,1
Deviererea Standart	20,2	19,5	19,1	18,9	17,8	16,9	17,8	17,0	16,7	18,3
Î 95%-	32,5	34,9	31,7	30,9	28,7	27,3	26,7	27,3	28,0	30,6
Î 95%+	38,2	37,7	34,2	33,5	31,3	29,9	29,5	29,9	30,8	31,6
Mediana	39,0	39,0	35,0	33,0	30,0	28,0	26,0	27,5	28,0	32,0
Percentila 25	15,5	20,0	15,0	15,0	14,0	13,0	12,0	13,0	14,0	14,0
Percentila 75	52,0	52,0	49,0	49,0	45,0	43,0	42,0	43,0	43,0	46,0
<b>Concentrația sperm. mobili (mln/ml)</b>	<i>F=19,1; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=131,5; gl=8; p=0,000</i>									
Media	25,2	24,8	20,6	19,9	16,8	14,6	15,4	14,6	16,6	18,4
Deviererea Standart	27,5	24,7	21,8	22,9	21,1	18,5	21,5	18,6	23,1	22,1
Î 95%-	21,5	23,0	19,1	18,4	15,3	13,2	13,7	13,2	14,9	17,9
Î 95%+	29,6	26,7	22,0	21,7	18,7	16,1	17,1	16,3	19,2	19,1
Mediana	15,9	17,6	12,6	9,5	7,8	7,2	5,8	6,7	7,8	8,9
Percentila 25	2,3	3,3	2,0	1,5	1,2	1,1	0,9	1,2	1,7	1,5
Percentila 75	40,5	40,5	36,4	35,2	28,0	22,3	21,5	22,3	24,2	30,7
<b>Nr. total de sperm. mobili (mln/ejaculat)</b>	<i>F=28,1; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=152,0; gl=8; p=0,000</i>									
Media	70,3	77,8	58,6	54,9	44,8	40,5	41,0	40,7	40,3	51,3
Deviererea Standart	77,1	84,7	68,1	68,3	58,4	54,4	58,4	56,2	52,4	65,7
Î 95%-	59,5	71,7	54,0	50,2	40,4	36,4	36,4	36,3	36,0	49,7
Î 95%+	81,0	84,5	63,2	59,8	49,1	44,6	45,6	45,1	44,7	53,1
Mediana	45,0	51,1	29,7	23,7	19,8	17,2	14,8	17,1	20,1	22,6
Percentila 25	6,4	9,3	4,5	3,4	3,2	3,3	2,7	3,4	3,7	3,7
Percentila 75	121,6	120,3	94,2	88,7	68,3	57,9	53,7	56,0	58,1	78,4
<b>Indexul mobilității</b>	<i>F=22,5; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=126,3; gl=8; p=0,000</i>									
Media	130,8	135,0	117,6	113,8	101,5	92,6	92,6	91,9	92,0	106,7
Deviererea Standart	102,5	99,4	91,6	93,3	84,2	77,3	83,9	78,0	75,1	88,3
Î 95%-	116,5	127,6	111,4	107,3	95,3	86,8	86,0	85,8	85,8	104,4
Î 95%+	145,1	142,4	123,7	120,3	107,8	98,4	99,2	97,9	98,3	108,9
Mediana	110	116	89,5	79	74	69	64	66,5	68	76
Percentila 25	33,5	51,0	37,5	34,0	35,0	32,0	26,0	32,0	33,0	34,0
Percentila 75	210	212	196	190	160	136	132	138	134	172

**Anexa 3. Rezultatele funcționalității, viabilității și formelor normale ale spermatozoizilor, anii 2012-2020**

	Anul									Total
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Nr. Abs.	200	703	852	794	703	685	630	640	560	5767
<b>Concentrația sperm. funcționali (mln/ml)</b>	<i>F=19,7; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=140,6; gl=8; p=0,000</i>									
Media	15,5	15,1	12,0	11,8	9,5	8,1	8,5	8,3	9,1	10,6
Devierea Standart	18,4	18,1	15,1	15,9	14,0	12,6	13,7	13,0	14,4	15,1
Î 95%-	12,9	13,8	11,0	10,7	8,4	7,1	7,4	7,2	7,9	10,2
Î 95%+	18,1	16,4	13,0	13,0	10,5	9,0	9,6	9,3	10,3	11,0
Mediana	10,0	7,5	4,4	3,4	2,6	2,5	2,2	2,4	2,8	2,9
Percentila 25	1,2	1,6	1,3	1,1	1,0	0,9	0,8	0,9	1,1	1,0
Percentila 75	22,8	23,0	19,6	18,4	13,9	10,6	9,3	10,6	11,8	15,7
<b>Nr. total de sperm. funcționali (mln/ejaculat)</b>	<i>F=25,7; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=160,9; gl=8; p=0,000</i>									
Media	42,0	46,1	34,1	32,4	25,1	21,9	23,6	22,6	22,5	29,5
Devierea Standart	52,1	57,6	45,5	45,8	38,8	33,9	39,7	36,5	35,5	43,8
Î 95%-	34,7	42,1	31,0	29,2	22,2	19,4	20,5	19,8	19,5	28,4
Î 95%+	49,3	50,9	37,1	35,8	28,0	24,5	26,7	25,4	25,4	30,7
Mediana	18,8	22,2	11,3	8,8	7,3	6,4	6,1	6,7	7,5	8,4
Percentila 25	3,8	4,6	3,0	2,5	2,2	2,4	1,9	2,3	2,5	2,6
Percentila 75	69,2	67,6	52,9	48,6	32,0	28,4	25,2	26,8	27,3	41,6
<b>Forme normale (%)</b>	<i>F=13,7; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=124,6; gl=8; p=0,000</i>									
Media	24,6	25,2	23,1	22,8	21,6	20,6	20,2	20,3	20,7	22,0
Devierea Standart	14,0	13,0	12,4	12,2	11,6	10,8	11,8	11,2	10,8	12,0
Î 95%-	22,7	24,3	22,3	21,9	20,8	19,8	19,3	19,5	19,8	21,8
Î 95%+	26,6	26,3	24,0	23,6	22,5	21,6	21,2	21,3	21,7	22,4
Mediana	25,0	26,0	22,0	20,0	19,0	19,0	19,0	19,0	19,0	20,0
Percentila 25	15,0	17,0	16,0	16,0	16,0	15,0	12,0	15,0	15,0	16,0
Percentila 75	35,0	35,0	34,0	33,0	30,0	28,0	27,0	28,0	28,0	32,0
<b>Viabilitatea (%)</b>	<i>F=48,7; p=0,000 KW X<sup>2</sup>=415,7; gl=8; p=0,000</i>									
Media	58	56	55	53	46	47	46	29	30	47
Devierea Standart	36	40	40	39	37	36	36	35	34	38
Î 95%-	53,5	53,3	52,3	50,4	43,5	44,3	43,5	26,7	26,7	45,7
Î 95%+	63,5	59,2	57,6	55,8	49,0	49,6	49,1	32,2	32,4	47,7
Mediana	62	52	47	41	35	36	35	18	18	35
Percentila 25	27	20	19	17	16	18	16	0	0	14
Percentila 75	88	93	97	95	91	91	90	41	46	91

#### Anexa 4. Rezultatele parametrilor materialului seminal între perioade agregate

Parametrii spermogramei	Anii	2012-2015	2016-2020	Total	F; p
		n=2549	n=3218	n=5767	
Volum (ml)	Media ± DS	3,0 ± 1,2	2,8 ± 1,0	2,9 ± 1,1	<i>F=25,7;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	2,9 - 3,0	2,8 - 2,8	2,8 - 2,9	
	Mediana	2,9	2,8	2,9	
	Percentila 25-75	2,2 - 3,6	2,2 - 3,5	2,2 - 3,5	
Concentrația spermatozoizi (mln/ml)	Media ± DS	45,0 ± 35,6	34,3 ± 30,5	39,0 ± 33,3	<i>F=150,1;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	43,6 - 46,4	33,3 - 35,4	38,2 - 39,9	
	Mediana	37	25	29	
	Percentila 25-75	14 - 76	9 - 53	11 - 64	
Nr. total de spermatozoizi (mln/ejaculat)	Media ± DS	132,4 ± 122,0	96,0 ± 95,0	112,1 ± 109,3	<i>F=162,8;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	127,7 - 137,1	92,7 - 99,2	109,2 - 114,9	
	Mediana	96,1	63,8	74,5	
	Percentila 25-75	32,4 - 206,8	24,5 - 140,0	27,2 - 168,0	
Mobilitatea progresivă (%)	Media ± DS	33,8 ± 19,3	28,9 ± 17,3	31,1 ± 18,3	<i>F=102,1;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	33,1 - 34,6	28,3 - 29,5	30,6 - 31,6	
	Mediana	36	28	32	
	Percentila 25-75	16 - 50	13 - 43	14 - 46	
Concentrația sperm. mobili (mln/ml)	Media ± DS	21,9 ± 23,5	15,6 ± 20,6	18,4 ± 22,1	<i>F=119,3;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	21,0 - 22,8	14,9 - 16,3	17,8 - 18,9	
	Mediana	12,9	7,2	8,9	
	Percentila 25-75	2,3 - 38,0	1,1 - 23,7	1,5 - 30,7	
Nr. total de sperm. mobili (mln/ejaculat)	Media ± DS	63,7 ± 74,4	41,5 ± 56,1	51,3 ± 65,7	<i>F=165,6;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	60,8 - 66,5	39,6 - 43,5	49,6 - 53,0	
	Mediana	33,4	17,3	22,6	
	Percentila 25-75	5,2 - 103,3	3,1 - 59,4	3,7 - 78,4	
Concentrația sperm. funcționali (mln/ml)	Media ± DS	13,1 ± 16,5	8,7 ± 13,5	10,6 ± 15,1	<i>F=124,5;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	12,5 - 13,7	8,2 - 9,1	10,2 - 11,0	
	Mediana	4,8	2,5	2,9	
	Percentila 25-75	1,3 - 21,0	0,9 - 11,5	1,0 - 15,7	
Nr. total de sperm. funcționali (mln/ejaculat)	Media ± DS	37,5 ± 50,1	23,2 ± 37,0	29,5 ± 43,8	<i>F=155,5;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	35,5 - 39,4	21,9 - 24,5	28,4 - 30,6	
	Mediana	13,3	6,7	8,4	
	Percentila 25-75	3,3 - 56,6	2,3 - 28,0	2,6 - 41,6	
Indexul mobilității	Media ± DS	122,2 ± 95,6	94,3 ± 80,0	106,7 ± 88,3	<i>F=146,0;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	118,5 - 126,0	91,5 - 97,1	104,4 - 108,9	
	Mediana	95	69	76	
	Percentila 25-75	40 - 200	32 - 140	34 - 172	
Forme normale (%)	Media ± DS	23,7 ± 12,7	20,7 ± 11,3	22,0 ± 12,0	<i>F=146,0;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	23,2 - 24,2	20,3 - 21,1	21,7 - 22,3	
	Mediana	22	19	20	
	Percentila 25-75	16 - 34	15 - 29	16 - 32	
Viabilitatea (%)	Media ± DS	55,0 ± 39,2	40,1 ± 36,5	46,7 ± 38,4	<i>F=221,1;</i> <i>p = 0,000</i>
	ÎÎ 95%	53,5 - 56,5	38,9 - 41,4	45,7 - 47,7	
	Mediana	49,0	31,0	35,0	
	Percentila 25-75	19 - 95	11,0 - 57,0	14 - 91	

**Anexa 5. Evaluarea indicatorilor spermogramelor cu normozoospermie în perioada anilor 2012-2020**

	Anul									
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Total
Nr.abs	93	297	321	275	182	175	162	99	81	1685
<b>Volum (ml)</b>	F=5,1; p=0.000 KW X2=28,8; gl=8; p=0.001									
Media	3,2	3,4	3,1	2,9	3,0	3,0	2,9	3,1	2,9	3,1
Devierea Standart	1,2	1,3	1,0	1,0	0,9	1,0	0,8	0,8	0,9	1,0
Î 95-	3,0	3,2	3,0	2,8	2,9	2,9	2,8	2,9	2,7	3,0
Î 95+	3,4	3,5	3,2	3,0	3,1	3,2	3,0	3,2	3,1	3,1
Mediana	3,2	3,3	2,9	2,9	3,1	2,9	2,9	3,0	2,8	3,0
Percentila 25	2,3	2,5	2,3	2,2	2,3	2,2	2,3	2,5	2,2	2,3
Percentila 75	3,8	3,8	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,6	3,5	3,5
<b>pH</b>	F=8,3; p=0.000 KW X2=117,7; gl=8; p=0.001									
Media	7,82	7,75	7,84	7,77	7,79	7,85	7,83	7,80	7,76	7,80
Devierea Standart	0,20	0,24	0,22	0,19	0,16	0,12	0,14	0,17	0,15	0,19
Î 95-	7,78	7,72	7,82	7,75	7,76	7,84	7,81	7,76	7,73	7,79
Î 95+	7,86	7,78	7,87	7,80	7,81	7,87	7,85	7,83	7,79	7,81
Mediana	7,8	7,7	7,9	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
Percentila 25	7,7	7,6	7,8	7,7	7,7	7,8	7,8	7,8	7,7	7,7
Percentila 75	7,9	7,9	8,0	7,9	7,9	8,0	7,9	7,9	7,8	7,9
<b>Concentrația spermatozoidilor (mln/ml)</b>	F=6,3; p=0.000 KW X2=52,8; gl=8; p=0.000									
Media	74,3	80,1	75,4	78,6	75,3	71,5	77,1	71,2	64,7	75,7
Devierea Standart	23,1	25,5	18,9	21,0	20,3	18,7	23,5	22,7	16,8	21,8
Î 95-	69,6	77,2	73,3	76,1	72,4	68,7	73,5	66,7	61,0	74,6
Î 95+	79,1	83,0	77,5	81,1	78,3	74,3	80,7	75,7	68,4	76,7
Mediana	76	78	77	78	76	69	78,5	68	62	76
Percentila 25	56	58	61	63	61	57	57	54	50	58
Percentila 75	86	94	86	91	85	83	90	80	76	87
<b>Nr. total de spermatozoizi (mln/ejaculat)</b>	F=7,6; p=0.000 KW X2=46,6; gl=8; p=0.000									
Media	234,2	262,1	227,7	229,6	222,1	217,2	221,8	216,2	183,5	229,4
Devierea Standart	113,0	120,7	89,6	92,0	78,5	88,6	86,0	84,6	71,3	96,6
Î 95-	210,9	248,3	217,8	218,7	210,7	204,0	208,4	199,3	167,8	224,7
Î 95+	257,4	275,9	237,5	240,5	233,6	230,5	235,1	233,0	199,3	234,0
Mediana	237,0	247,9	215,0	219,6	213,5	197,6	209,0	197,0	175,0	215,0
Percentila 25	139,4	176,4	162,0	154,0	166,6	153,0	154,1	155,0	136,0	157,7
Percentila 75	310,6	327,6	279,0	290,5	266,2	274,5	276,4	260,0	228,0	284,2
<b>Mobilitatea progresivă (%)</b>	F=6,6; p=0.000 KW X2=50,5; gl=8; p=0.000									
Media	50,4	52,4	50,9	51,7	50,8	49,4	51,3	49,1	47,1	50,8
Devierea Standart	7,9	8,5	6,6	7,1	6,9	6,4	7,6	6,9	5,7	7,3
Î 95-	48,8	51,4	50,1	50,9	49,8	48,5	50,1	47,8	45,8	50,5
Î 95+	52,0	53,3	51,6	52,6	51,8	50,4	52,5	50,5	48,3	51,2
Mediana	50	52	51	52	50	48	52	47	46	50
Percentila 25	44	45	46	46	46	44	45	44	43	45
Percentila 75	55	58	55	57	55	54	56	53	51	55



<b>Concentrația sperm. mobili (mln/ml)</b>		F=3,6; p=0.000 KW X2=42,4; gl=8; p=0.000								
Media	40,6	43,5	39,4	42,4	39,7	37,4	42,1	37,9	34,3	40,4
Devierea Standart	21,3	21,3	14,8	18,3	16,1	17,2	21,0	20,1	22,5	18,8
Î 95-	36,2	41,1	37,8	40,2	37,4	34,8	38,9	33,8	29,3	39,5
Î 95+	45,0	46,0	41,0	44,5	42,1	39,9	45,4	41,9	39,3	41,3
Mediana	38,7	40,5	39,2	40,5	38,0	33,6	41,0	33,0	28,5	38,0
Percentila 25	25,6	26,1	28,0	29,4	28,0	25,6	25,6	23,7	21,5	26,1
Percentila 75	47,3	52,4	47,3	51,8	46,7	44,8	50,4	42,9	39,0	48,7
<b>Nr. total de sperm. mobili (mln/ejaculat)</b>		F=8,2; p=0.000 KW X2=50,7; gl=8; p=0.000								
Media	124,6	142,9	118,2	122,2	116,2	111,2	117,5	109,1	88,6	120,6
Devierea Standart	73,1	83,5	58,5	61,7	53,3	58,4	60,4	58,5	41,7	65,1
Î 95-	109,5	133,4	111,8	114,8	108,4	102,5	108,2	97,4	79,4	117,5
Î 95+	139,6	152,5	124,6	129,5	124,0	119,9	126,9	120,8	97,8	123,7
Mediana	115,9	127,7	109,2	109,0	106,7	100,8	105,6	93,1	79,3	106,7
Percentila 25	66,4	82,3	76,3	73,9	74,5	69,1	72,8	67,0	59,8	73,0
Percentila 75	170,2	177,1	147,8	162,4	143,5	141,7	153,4	139,0	109,3	154,3
<b>Concentrația sperm. funcionali (mln/ml)</b>		F=4,8; p=0.000 KW X2=44,6; gl=8; p=0.000								
Media	24,0	27,3	23,7	26,5	24,6	22,3	25,4	22,3	17,9	24,6
Devierea Standart	14,3	17,7	12,5	15,7	14,4	15,1	15,7	16,0	11,9	15,2
Î 95-	21,0	25,3	22,4	24,6	22,5	20,0	22,9	19,1	15,3	23,8
Î 95+	26,9	29,4	25,1	28,3	26,7	24,5	27,8	25,5	20,5	25,3
Mediana	20,5	22,5	21,5	23,0	21,0	17,6	22,8	16,8	14,0	21,0
Percentila 25	12,5	13,0	13,6	14,8	14,8	12,4	12,4	11,5	10,3	13,0
Percentila 75	30,6	36,6	30,6	34,8	30,6	28,0	34,2	26,0	22,0	31,8
<b>Nr. total de sperm. funcionali (mln/ejaculat)</b>		F=8,2; p=0.000 KW X2=54,9; gl=8; p=0.000								
Media	74,7	87,8	71,3	75,3	68,9	63,5	71,5	62,5	47,8	72,3
Devierea Standart	53,6	61,6	43,6	46,6	41,4	41,2	47,3	42,7	28,3	48,4
Î 95-	63,6	80,8	66,5	69,7	62,8	57,3	64,2	54,0	41,5	70,0
Î 95+	85,7	94,9	76,0	80,8	74,9	69,6	78,9	71,0	54,0	74,7
Mediana	60,9	68,6	62,1	64,5	57,4	52,8	58,6	49,4	39,2	59,0
Percentila 25	28,7	44,2	39,2	38,7	37,2	34,2	36,2	32,3	28,0	36,7
Percentila 75	112,3	112,4	91,8	104,1	89,7	78,7	98,8	75,0	61,6	96,0
<b>Forme normale (%)</b>		F=6,6; p=0.000 KW X2=54,0; gl=8; p=0.000								
Media	34,2	35,5	34,6	35,5	34,6	33,5	34,9	33,1	31,5	34,6
Devierea Standart	6,3	6,4	5,1	5,5	5,7	5,8	5,8	5,2	4,4	5,8
Î 95-	32,9	34,8	34,0	34,8	33,7	32,7	33,9	32,1	30,5	34,3
Î 95+	35,5	36,3	35,1	36,2	35,4	34,4	35,8	34,2	32,5	34,8
Mediana	34	35	35	35	34	33	35	32	31	34
Percentila 25	29	30	31	31	31	29	30	29	28	30
Percentila 75	38	40	38	40	38	37	39	36	34	39

**Anexa 6. Repartizarea rezultatelor evaluării indicatorilor materialului seminal pe criterii diagnostice, anii 2012-2020**

	Anul																			
	2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Normozoospermia</b>																				
dintre care	93	46,5	297	42,2	321	37,7	275	34,6	182	25,9	175	25,5	162	25,7	99	15,5	81	14,5	1685	29,2
+ leucocite	16	17,2	50	16,8	86	26,8	40	14,5	45	24,7	25	14,3	48	29,6	15	15,2	24	29,6	349	20,7
<i>X<sup>2</sup>=36,8; gl=8; p=0,000</i>																				
<b>Oligozoospermia</b>																				
dintre care	42	21,0	127	18,1	197	23,1	221	27,8	213	30,3	216	31,5	217	34,4	200	31,3	173	30,9	1606	27,8
+ leucocite	16	38,1	47	37,0	96	48,7	109	49,3	95	44,6	109	50,5	133	61,3	123	61,5	97	56,1	825	51,4
<i>X<sup>2</sup>=36,6; gl=8; p=0,000</i>																				
<b>Oligoastenoteratozoospermia</b>																				
dintre care	1	0,5	17	2,4	8	0,9	13	1,6	11	1,6	7	1,0	10	1,6	16	2,5	10	1,8	93	1,6
+ leucocite	1	100	4	23,5	5	62,5	5	38,5	7	63,6	1	14,3	8	80,0	12	75,0	3	30,0	46	49,5
<i>X<sup>2</sup>=20,5; gl=8; p=0,008</i>																				
<b>Astenospermia</b>																				
dintre care	43	21,5	222	31,6	261	30,6	230	29,0	253	36,0	246	35,9	201	31,9	290	45,3	265	47,2	2016	35,0
+ leucocite	18	41,9	63	28,4	123	47,1	77	33,5	111	43,9	88	35,8	94	46,8	96	33,1	97	35,9	767	38,0
<i>X<sup>2</sup>=34,4; gl=8; p=0,000</i>																				
<b>Oligoastenzooospermia</b>																				
dintre care	7	3,5	9	1,3	18	2,1	26	3,3	19	2,7	18	2,6	20	3,2	10	1,6	16	2,9	143	2,5
+ leucocite	1	14,3	2	22,2	7	38,9	14	53,8	9	47,4	6	33,3	12	60,0	4	40,0	4	25,0	59	41,3
<i>X<sup>2</sup>=10,6; gl=8; p=0,226</i>																				
<b>Azoospermia</b>																				
dintre care	14	7,0	31	4,4	47	5,5	29	3,7	25	3,6	23	3,4	20	3,2	25	3,9	15	2,8	224	3,9
+ leucocite	1	7,1	7	22,6	7	14,9	10	34,5	10	40,0	7	30,4	8	40,0	5	20,0	2	20,0	57	25,4
<i>X<sup>2</sup>=12,5; gl=8; p=0,131</i>																				
Total	200	100	703	100	852	100	794	100	703	100	685	100	630	100	640	100	560	100	5767	100

*(Normozoospermia, Oligozoospermia/ Oligoastenzooospermia/ Astenospermia/ Oligoastenospermia/ Azoospermia X<sup>2</sup>=352,7; gl=40; p=0,000)*

## Anexa 7. Confirmările distincțiilor, premiilor, actelor de proprietate intelectuală



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

# DIPLOMĂ

Se decernează

**Dnei Stela Racoviță**  
doctorand, anul III, specialitatea  
*Biologie moleculară și genetică medicală*  
**Laureat al Concursului „Performante în cercetare”**  
pentru ciclul de lucrări în domeniul „Variații genetice în  
infertilitatea masculină cu azoospermie”

**CONGRESUL**  
CONSACRAT ANIVERSĂRII A 75-A  
DE LA FONDAREA USMF „NICOLAE TESTEMIȚANU”

hr  
21 23 octombrie  
2020

Chișinău, Republica Moldova

Rector *E. Ceban* **Emil Ceban**,  
profesor universitar, dr. hab. șt. med.,  
președinte al Comitetului  
organizatoric al Congresului

Prorector pentru activitate  
de cercetare *S. Groppa* **Stanislav Groppa**,  
profesor universitar, dr. hab. șt. med.,  
academician al AȘM,  
președinte al Biroului Comitetului  
științific al Congresului

EURO INVENT  
12 EDITION  
SPONSOR DIVISION OF  
GENETICS AND INFERTILITY  
2021  
ONLINE  
IASI - ROMANIA

# DIPLOMA

OF  
**SILVER MEDAL** is awarded to:

**Molecular genetic method for detecting  
Y chromosome microdeletions in male infertility**

**RACOVIȚĂ Stela, MOȘIN Veaceslav, CAPCELEA Svetlana,  
BOICIUC Chiril, SPRINCEAN Mariana**

President of International Jury  
Prof. Dr. Eng. Mohd Musaffir Bakri ABDULLAH

President of Exhibition  
Prof. Dr. Ion SANDU

May 22, 2021

George Ibrăilescu  
IFIA  
WIFIA

Association of Medical  
Students and Residents

MINISTRY OF HEALTH  
LABOR AND SOCIAL PROTECTION

8<sup>th</sup>  
International Medical Congress  
For Students and Young Doctors

# DIPLOMA

II<sup>nd</sup> Place Award Certification  
IS PRESENTED TO

**Stela Racovita**

for the outstanding achievement during the oral presentation at the  
8<sup>th</sup> edition of MedEspera International Congress for Students and Young Doctors,  
held on September 24-26, 2020, Chisinau, Republic of Moldova.

SPONSOR GENERAL **breident**  
MOLDOVA

Stanislav Groppa  
1970 PhD Professor  
Academician

Vlad Popov  
Head of Department of Genetics

Georghe Ibrăilescu  
President of ASMR

SRGM  
Societatea Romana  
de Genetica Medicala

# PREMIU

**Racoviță Stela**  
pentru lucrarea poster intitulata  
**Cytogenetic and Y chromosome microdeletion testing in  
infertile males**

A XI A CONFERINȚĂ DE GENETICĂ MEDICALĂ CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ  
TIMIȘOARA, 18-20 SEPTEMBRIE 2019

Prof. Dr. MARIA PUJU  
Președinte Comitet Organizare

Prof. Dr. VLAD EUSEBIU GORDUZA  
Președinte SRGM

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„NICOLAE TESTEMIȚANU” DIN REPUBLICA MOLDOVA

# DIPLOMĂ

se decernează

**Dnei Stela RACOVIȚĂ**  
asistent universitar,  
Catedra de biologie moleculară și genetică umană,  
**Laureat al Concursului „Profesorul anului 2022”,**  
la categoria Asistent universitar

Rector *E. Ceban* **Emil Ceban**,  
profesor universitar, dr. hab. șt. med.



# GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA

HOTĂRÂRE nr. \_\_\_\_

din \_\_\_\_\_ 2022

Chișinău

**Cu privire la acordarea Bursei de excelență a Guvernului și a Bursei pe  
domeniul științific pentru studenții doctoranzi pe anul 2022 -----**  
-----

În temeiul art. 19 alin. (4) din Codul educației al Republicii Moldova nr. 152/2014 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2014, nr. 319-324, art. 634), cu modificările ulterioare, și al art. 49 lit. g) din Codul cu privire la știință și inovare al Republicii Moldova nr. 259/2004 (republicat în Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2018, nr. 58-66, art. 131), cu modificările ulterioare, Guvernul HOTĂRĂȘTE:

I. Se acordă:

1) Bursa de excelență a Guvernului pentru studenții doctoranzi pe anul 2022, conform anexei nr. 1;

Racovița Stela – specialitatea științifică 315.02. Biologie moleculară și genetică medicală, anul IV, Școala Doctorală în Domeniul Științe Medicale.  
Instituția organizatoare de doctorat:  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

**Prim-ministru**

**NATALIA GAVRILIȚA**

Contrasemnează:

Ministrul educației  
și cercetării

Anatolie Topală

Ministrul finanțelor

Dumitru Budianschi



REPUBLICA MOLDOVA  
 Agenția de Stat pentru  
 Proprietatea Intelectuală

**BREVET**  
 DE INVENȚIE  
 DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 1489

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: **Metodă molecular-genetică pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină**

Titular: **UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2020.06.19  
 Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

 **Director General**  


CHIȘINĂU



Republica Moldova  
 Ministerul Sănătății,  
 Muncii și Protecției Sociale

**CERTIFICAT DE INOVATOR**

Nr. 5770

Pentru inovația cu titlul

**Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației Genei DBY a cromozomului Y în infertilitatea masculină**

Inovația a fost înregistrată pe data de **23 iunie 2020** în Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu".

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**RACOVITĂ Stela, SPRINCEAN Mariana, MOȘIN Veaceslav, CAPCELEA Svetlana, SACARA Victoria, BOICIUC Chiril**

Data eliberării **23 iunie 2020**  
 L.S. 



Republica Moldova  
 Ministerul Sănătății,  
 Muncii și Protecției Sociale

**CERTIFICAT DE INOVATOR**

Nr. 5771

Pentru inovația cu titlul

**Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației Genei DYS209 a cromozomului Y în infertilitatea masculină**

Inovația a fost înregistrată pe data de **23 iunie 2020** în Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu".

Se recunoaște calitatea de autor(i)

**RACOVITĂ Stela, SPRINCEAN Mariana, MOȘIN Veaceslav, CAPCELEA Svetlana, SACARA Victoria, BOICIUC Chiril**

Data eliberării **23 iunie 2020**  
 L.S. 












	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 6 / 8
	<b>"APROB"</b> Prorector pentru activitatea de cercetare, IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM Academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Stanislav GROPPA 2020	
<b>ACTUL nr. 44 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-didactic)		
<p>1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DBY A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"</p> <p>2. <b>Autori:</b> RACOVITĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5770 din 23 iunie 2020.</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedra de biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Spre exemplu în cazul delețiilor ambelor gene USP9Y (Ubiquitin-specific protease 9, Y chromosome) și DBY (dead box on the Y), cauzează Sindromul celulelor Sertoli, o afecțiune caracterizată prin prezența celulelor Sertoli în testicule și lipsa spermatozoizilor. În acest caz, nu se recomandă extragerea microchirurgicală de spermă prin (micro)TESE și utilizarea injecției intracitoplasmatică de spermă (ICSI), spermatogeneza reziduală nu poate fi prezentă în testicule.</p> <p>6. <b>Rezultatele:</b> Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.</p>		
<i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere</i>		
Șef catedră de biologie moleculară și genetică umană, conf. univ., dr. șt. biol.  Igor CEMORTAN Departamentul didactic conf. univ., dr. șt. med.  Silvia STRATULAT Șef departament știință, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Elena RAEVSCHI		
<i>Inovația este nouă pentru USMF "Nicolae Testemițanu" V. Novîcova</i>		

	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 6 / 8
	<b>"APROB"</b> Prorector pentru activitatea de cercetare, IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM Academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Stanislav GROPPA 2020	
<b>ACTUL nr. 45 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-didactic)		
<p>1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DYS209 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"</p> <p>2. <b>Autori:</b> RACOVITĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5771 din 23 iunie 2020.</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedra biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Detectarea diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.</p> <p>6. <b>Rezultatele:</b> Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.</p>		
<i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere</i>		
Șef catedră biologie moleculară și genetică umană, conf. univ., dr. șt. biol.,  Igor CEMORTAN Departamentul didactic conf. univ., dr. șt. med.  Silvia STRATULAT Șef departament știință, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Elena RAEVSCHI		
<i>Inovația este nouă pentru USMF "Nicolae Testemițanu" V. Novîcova</i>		

	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 6 / 8
	<b>"APROB"</b> Prorector pentru activitatea de cercetare, IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM Academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Stanislav GROPPA 2020	
<b>ACTUL nr. 46 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-didactic)		
<p>1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DYS237 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"</p> <p>2. <b>Autori:</b> RACOVITĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5772 din 23 iunie 2020.</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedra de biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Detectarea diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.</p> <p>6. <b>Rezultatele:</b> Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.</p>		
<i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere</i>		
Șef catedră biologie moleculară și genetică umană, conf. univ., dr. șt. biol.  Igor CEMORTAN Departamentul didactic conf. univ., dr. șt. med.  Silvia STRATULAT Șef departament știință, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Elena RAEVSCHI		
<i>Inovația este nouă pentru USMF "Nicolae Testemițanu" V. Novîcova</i>		

	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 6 / 8
	<b>"APROB"</b> Prorector pentru activitatea de cercetare, IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM Academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Stanislav GROPPA 2020	
<b>ACTUL nr. 48 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-didactic)		
<p>1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI RBMY1 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"</p> <p>2. <b>Autori:</b> RACOVITĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5774 din 23 iunie 2020.</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedra de biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Deleții ale genei RBMY1 conduc la scăderea numărului de spermatozoizi; blocarea spermatogenezei la nivel de spermatoцит. În acest caz, nu se recomandă extragerea microchirurgicală de spermă prin (micro)TESE și utilizarea injecției intracitoplasmatică de spermă (ICSI).</p> <p>6. <b>Rezultatele:</b> Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.</p>		
<i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere</i>		
Șef catedră biologie moleculară și genetică umană, conf. univ., dr. șt. biol.,  Igor CEMORTAN Departamentul didactic conf. univ., dr. șt. med.  Silvia STRATULAT Șef departament știință, prof. univ., dr. hab. șt. med.  Elena RAEVSCHI		
<i>Inovația este nouă pentru USMF "Nicolae Testemițanu" V. Novîcova</i>		

	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ</b> <b>UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE</b> <b>"NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 6 / 8
	<b>"APROB"</b> Prorector pentru activitatea de cercetare, IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM Academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  <b>Stanislav GROPPA</b> 2020	
<b>ACTUL nr. 49</b> <b>DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-didactic)		
<p>1. Denumirea ofertei pentru implementare: "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI USP9Y A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"</p> <p>2. <b>Autori:</b> RACOVIȚĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5775 din 23 iunie 2020.</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedra de biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Spre exemplu în cazul delețiilor ambelor gene USP9Y (Ubiquitinspecific protease 9, Y chromosome) și DBY (dead box on the Y), cauzează Sindromul celulelor Sertoli, o afecțiune caracterizată prin prezența celulelor Sertoli în testicule și lipsa spermatozoizilor. În acest caz, nu se recomandă extragerea microchirurgicală de spermă prin (microTESE) și utilizarea injecției intracitoplasmatică de spermă (ICSI), spermatogeneza reziduală nu poate fi prezentă în testicule.</p> <p>6. <b>Rezultatele:</b> Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.</p> <p style="text-align: center;"><i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere</i></p> <p>Șef catedră biologie moleculară și genetică umană, conf. univ., dr.șt.biol.  <b>Igor CEMORTAN</b></p> <p>Departamentul didactic conf. univ., dr. șt. med.  <b>Silvia STRATULAT</b></p> <p>Șef departament știință, prof. univ., dr. hab. șt. med.  <b>Elena RAEVSCHI</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Inovația este nouă pentru USMF "Nicolae Testemițanu" V. Novikova</i></p>		

	<b>INSTITUȚIA PUBLICĂ</b> <b>UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE</b> <b>"NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA</b>	Pag. 6 / 8
	<b>"APROB"</b> Prorector pentru activitatea de cercetare, IP USMF „Nicolae Testemițanu” din RM Academician al AȘM, prof. univ., dr. hab. șt. med.  <b>Stanislav GROPPA</b> 2020	
<b>ACTUL nr. 43</b> <b>DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-didactic)		
<p>1. Denumirea ofertei pentru implementare: "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DYS241 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"</p> <p>2. <b>Autori:</b> RACOVIȚĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana, dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.</p> <p>3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 5773 din 23 iunie 2020.</p> <p>4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> rezultatele studiului au fost implementate în procesul didactic la Catedra de biologie moleculară și genetică umană, USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p>5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Detectarea diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.</p> <p>6. <b>Rezultatele:</b> Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.</p> <p style="text-align: center;"><i>Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere</i></p> <p>Șef catedră biologie moleculară și genetică umană, conf. univ., dr.șt. biol.  <b>Igor CEMORTAN</b></p> <p>Departamentul didactic conf. univ., dr. șt. med.  <b>Silvia STRATULAT</b></p> <p>Șef departament știință, prof. univ., dr. hab. șt. med.  <b>Elena RAEVSCHI</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Inovația este nouă pentru USMF "Nicolae Testemițanu" V. Novikova</i></p>		



MD-2062, mun. Chișinău, str. Burebista, 93  
Tel. (+37322) 52-36-61;  
Fax. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

MD-2062, mun. Кишинэу, ул. Бурбиста, 93  
Тел. (+37322) 52-36-61;  
Факс. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

„APROB”  
Director IMSP IMȘIC  
Dr. șt.med., conf.univ  
Sergiu GLADUN

#### ACT DE IMPLEMENTARE

- Denumirea ofertei pentru implementare:** "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DBY A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"
- Autori:** RACOVITĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril doctorand.
- Numărul inovației:** Nr. 473 din 22 iunie 2020.
- Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implementate în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului
- Eficacitatea implementării:** Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Spre exemplu în cazul delețiilor ambelor gene USP9Y (Ubiquitinspecific protease 9, Y chromosome) și DBY (dead box on the Y), cauzează Sindromul celulelor Sertoli, o afecțiune caracterizată prin prezența celulelor Sertoli în testicule și lipsa spermatozoizilor. În acest caz, nu se recomandă extragerea microchirurgicală de spermă prin (microTESE) și utilizarea injecției intracitoplasmatică de spermă (ICSI), spermatogeneza reziduală nu poate fi prezentă în testicule.
- Rezultatele:** Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.

Șef Laborator de Genetică Moleculară Umană,  
dr. hab. în biol.

- Victoria SACARA

Secretar științific  
dr. șt.med., conf.univ

- Ala BURLACU

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație,  
certificată cu nr.473 din 22.06.2020



MD-2062, mun. Chișinău, str. Burebista, 93  
Tel. (+37322) 52-36-61;  
Fax. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

MD-2062, mun. Кишинэу, ул. Бурбиста, 93  
Тел. (+37322) 52-36-61;  
Факс. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

„APROB”  
Director IMSP IMȘIC  
Dr. șt.med., conf.univ  
Sergiu GLADUN

#### ACT DE IMPLEMENTARE

- Denumirea ofertei pentru implementare:** "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DYS209 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"
- Autori:** RACOVITĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.
- Numărul inovației:** Nr. 474 din 22 iunie 2020.
- Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implementate în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului
- Eficacitatea implementării:** Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Detectarea diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.
- Rezultatele:** Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.

Șef Laborator de Genetică Moleculară Umană,  
dr. hab. în biol.

- Victoria SACARA

Secretar științific  
Dr. șt.med., conf.univ

- Ala BURLACU

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație,  
certificată cu nr.474 din 22.06.2020



MD-2062, mun. Chișinău, str. Burebista, 93  
Tel. (+37322) 52-36-61;  
Fax. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

MD-2062, mun. Кишинев, ул. Бурбистра, 93  
Тел. (+37322) 52-36-61;  
Факс. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com



#### ACT DE IMPLEMENTARE

- Denumirea ofertei pentru implementare:** "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DYS237 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"
- Autori:** RACOVIȚĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. in biol., BOICIUC Chiril, doctorand.
- Numărul inovației:** Nr. 475 din 22 iunie 2020.
- Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implementate în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului
- Eficacitatea implementării:** Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Detectarea diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.
- Rezultatele:** Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.

Șef Laborator de Genetică Moleculară Umană,  
dr. hab. in biol.

Victoria SACARA

Secretar științific  
Dr. șt.med., conf.univ

Ala BURLACU

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație,  
certificată cu nr.475 din 22.06.2020



MD-2062, mun. Chișinău, str. Burebista, 93  
Tel. (+37322) 52-36-61;  
Fax. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

MD-2062, mun. Кишинев, ул. Бурбистра, 93  
Тел. (+37322) 52-36-61;  
Факс. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com



#### ACT DE IMPLEMENTARE

- Denumirea ofertei pentru implementare:** "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI RBMY1 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"
- Autori:** RACOVIȚĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. in biol., BOICIUC Chiril, doctorand.
- Numărul inovației:** Nr. 477 din 22 iunie 2020.
- Unde și când a fost implementată:** rezultatele studiului au fost implementate în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului
- Eficacitatea implementării:** Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Deleții ale genei RBMY1 conduc la scăderea numărului de spermatozoizi; blocarea spermatogenezei la nivel de spermatoцит. În acest caz, nu se recomandă extragerea microchirurgicală de spermă prin (microTESE) și utilizarea injecției intracitoplasmatică de spermă (ICSI).
- Rezultatele:** Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.

Șef Laborator de Genetică Moleculară Umană,  
dr. hab. in biol.

Victoria SACARA

Secretar științific  
Dr. șt.med., conf.univ

Ala BURLACU

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație,  
certificată cu nr.477 din 22.06.2020



MD-2062, mun. Chișinău, str. Burebista, 93  
Tel. (+37322) 52-36-61;  
Fax. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

MD-2062, mun. Кишинэу, ул. Бурбистра, 93  
Тел. (+37322) 52-36-61;  
Факс. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com



ACT DE IMPLEMENTARE

1. Denumirea ofertei pentru implementare: "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI USP9Y A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"
2. Autori: RACOVIȚĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril, doctorand.
3. Numărul inovației: Nr. 478 din 22 iunie 2020.
4. Unde și când a fost implementată: rezultatele studiului au fost implementate Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului
5. Eficacitatea implementării: Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Spre exemplu în cazul delețiilor ambelor gene USP9Y (Ubiquitinspecific protease 9, Y chromosome) și DBY (dead box on the Y), cauzează Sindromul celulelor Sertoli, o afecțiune caracterizată prin prezența celulelor Sertoli în testicule și lipsa spermatozoizilor. În acest caz, nu se recomandă extragerea microchirurgicală de spermă prin (microTESE) și utilizarea injecției intracitoplasmatică de spermă (ICSI), spermatogeneza reziduală nu poate fi prezentă în testicule.
6. Rezultate: Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.

Șef Laborator de Genetică Moleculară Umană,  
dr. hab. în biol.

Victoria SACARA

Secretar științific  
Dr. șt.med., conf.univ

Ala BURLACU

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație,  
certificată cu nr.478 din 22.06.2020



MD-2062, mun. Chișinău, str. Burebista, 93  
Tel. (+37322) 52-36-61;  
Fax. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com

MD-2062, mun. Кишинэу, ул. Бурбистра, 93  
Тел. (+37322) 52-36-61;  
Факс. (+37322) 52-11-71  
E-mail: mamsicop@gmail.com



ACT DE IMPLEMENTARE

1. Denumirea ofertei pentru implementare: "METODĂ MOLECULAR-GENETICĂ PENTRU DEPISTAREA MUTAȚIEI GENEI DYS241 A CROMOZOMULUI Y ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ"
2. Autori: RACOVIȚĂ Stela, doctorand, asist. univ., SPRINCEAN Mariana, dr. psihol., conf. univ., MOȘIN Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ., CAPCELEA Svetlana dr. șt. med., conf. univ., SACARA Victoria, dr. hab. în biol., BOICIUC Chiril doctorand.
3. Numărul inovației: Nr. 476 din 22 iunie 2020.
4. Unde și când a fost implementată: rezultatele studiului au fost implementate în Laboratorul de Genetică Moleculară Umană IMSP Institutul Mamei și Copilului
5. Eficacitatea implementării: Esența inovației constă în aceea că testarea noilor gene va permite o abordare mai complexă, mult mai exactă în diagnosticul și tratamentul pacienților cu infertilitate masculină. Detectarea diferitor mutații ar trebui să conducă la o consiliere genetică cuprinzătoare, care să includă toate informațiile despre relevanța sa clinică, posibila moștenire, riscul genetic al descendenților și posibilitățile de diagnostic prenatal.
6. Rezultate: Inovația se referă la medicină, în special la genetica moleculară și poate fi utilizată pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină.

Șef Laborator de Genetică Moleculară Umană,  
dr. hab. în biol.

Victoria SACARA

Secretar științific  
Dr. șt.med., conf.univ

Ala BURLACU

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cererea de inovație,  
certificată cu nr.476 din 22.06.2020

# LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI MANIFESTĂRILOR ȘTIINȚIFICE

la care au fost prezentate rezultatele cercetărilor  
la teza de doctor în științe medicale,  
cu tema "Variații genetice în infertilitatea masculină cu azoospermie"

315.02 – Biologie Moleculară și Genetică Medicală,  
realizată în cadrul Catedrei biologie moleculară și genetică umană  
a dnei Racoviță Stela, asistent universitar,  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

## LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**
- ✓ **articole în reviste ISI, SCOPUS și alte baze de date internaționale\***
- 1. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V. Decline of semen quality among males consulted for couple infertility in the Republic of Moldova. *Archives of the Balkan Medical Union*. 2022;57(2):152-162. ISSN: 1584-9244. DOI: 10.31688/ABMU.2022.57.2.04. (IF:0,23)
- ✓ **articole în reviste din străinătate recenzate:**
- 2. Racoviță S., Capcelea S., Boiciuc K., Moșin V., Revenco N., Hadjiu S., Sprincean M. Clinical and genetic particularities in male infertility. *Romanian Journal of Child and Adolescent Neurology and Psychiatry*. 2019;25 (3): 61-70. ISSN: 2068-8040.
- 3. Racoviță S., Moșin V., Hadjiu S., Revenco N., Sprincean M. Behavioral and psychiatric aspects of infertile 47,XYY patient. *Romanian Journal of Child and Adolescent Neurology and Psychiatry*. 2020;26(2):75-85. ISSN: 2068-8040.
- 4. Racoviță S. Clinical and cytogenetic polymorphism in Klinefelter Syndrome. *Romanian Journal of Child and Adolescent Neurology and Psychiatry*. 2022;28(2):34-42. ISSN: 2068-8040.
- 5. Sprincean M., Hadjiu S., **Racoviță S.**, Halabudenco E., Samoilenko T., Mișina A., Egorov V., Lupușor N., Grîu C., Feghiu L., Cuzneț L., Călcii C., Revenco N. Differential diagnosis of chromosomal pathologies in children. *Romanian Journal of Child and Adolescent Neurology and Psychiatry*. 2020;26(2):47-63. ISSN: 2068-8040.
- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**
- ✓ **Articole în reviste de categoria B+**
- 6. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Mișina A., Sprincean M. Chromosomal abnormalities in men with azoospermia. *Moldovan Medical Journal*. 2021;64(1):50-55. ISSN: 2537-6373. DOI: 10.5281/zenodo.4527139.
- ✓ **Articole în reviste de categoria B**
- 7. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Ponetenco D., Boiciuc K., Sprincean M. Bărbat 46,XX, Raport de caz clinic. *Buletin de perinatologie*. 2019; 2(83):104-107. ISSN 1810-5289.
- 8. Racoviță S., Moșin V., Hadjiu S., Poneatenco D., Revenco N., Sprincean M. Syndrome 47,XYY associated with men's infertility: clinical case report. *Buletin de Perinatologie*. 2020, 1(86):112-115. ISSN 1810-5289.
- 9. Sprincean M., Hadjiu S., Halabudenco E., Fuior L., **Racoviță S.**, Egorov V., Barbova N., Calcii C., Revenco N. Role of medico-genetic counseling and prenatal screening in diagnosis of renal urinary pathology in fetus. *Buletin de Perinatologie*. 2020;2(87):32-38. ISSN: 1810-5289.
- 10. Racoviță S., Sprincean M., Poneatenco D., Gorduza EV., Mosin V. Development of semen quality in male partners of infertile couples in the Republic of Moldova. *One Health and Risk Management*. 2020;1(1):36-41. ISSN:2587-3458. Doi:10.38045/OHRM.2020.1.06. (DOAJ)
- ✓ **Articole în reviste de categoria C**
- 11. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Hadjiu S., Barbova N., Halabudenco E., Mișina A., Aamoilenko T., Chesov E., Guțuleac R., Revenco N. Polimorfism clinic și variații citogenetice în infertilitatea masculină cauzată de Sindromul Klinefelter. *Buletinul Academiei de Științe, Științe Medicale*. 2018;1(58):44-48. ISSN 1857-0011.
- 12. Racoviță S., Capcelea S., Moșin V., Halabudenco E., Mișina A., Samoilenko T., Hadjiu S., Sprincean M. Variații cromozomiale la bărbații infertili. *Buletinul Academiei de Științe, Științe Medicale*. 2020;3(67):78-82. ISSN 1857-0011.

- **Articole în lucrările conferințelor științifice:**

- ✓ **naționale cu participare internațională**

13. Racoviță A., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Hadjiu S., Revenco N. 45,X/46,XY la bărbat cu infertilitate: raport de caz clinic. *Materialele conferinței naționale cu participare internațională Bienală Chișinău-Sibiu, ediția V-a: „Managementul interdisciplinar al copilului”*. Chișinău: 2022, p. 145-149. ISBN 978-9975-58-274-2.
14. Sprincean, M., Hadjiu, S., Călcii, C., Lupușor, N., Grîu, C., Feghiu, L., Cuzneț, L., Racoviță, S., Tihai, O., Revenco, N., Groppa, S. Resurse de ameliorare a dezvoltării copiilor cu unele patologii genetice. *Materialele conferinței naționale cu participare internațională Bienală Chișinău-Sibiu, ediția V-a: „Managementul interdisciplinar al copilului”*. Chișinău: 2022, p. 51-61.
15. Hadjiu, S., Călcii, C., Lupușor, N., Feghiu, L., Grîu, C., Cuzneț, L., Racoviță, S., Tihai, O., Sprincean, M., Revenco, N. Particularități clinico-diagnostice ale encefalopatiilor mitocondriale. *Materialele Conferinței Chișinău-Sibiu Managementul interdisciplinar al copilului, 2022*, 66-75.
16. Sprincean., Hadjiu S., Racovița, Tihai O., Popa C., Dumitraș A., Revenco N., Bioethical aspects in medico-genetic consultation. *Materialele Conferinței Științifice Internaționale, Health, Medicine and Bioethics in contemporary society: inter- and pluridisciplinary studies 5th edition*. Chișinău: 2022, p. 185-191.

- **Rezumate/abstracte/teze**

- ✓ **în lucrările conferințelor internaționale**

1. Racoviță S., Moșin V.; Gorduza EV., Hadjiu S., Chesov E., Revenco N., Sprincean M. Aspecte clinico-genetice în infertilitatea masculină. *Volum de rezumate, Școala Medicală de pediatrie*. România Iași, România: 2018, p. 57.
2. Racoviță S., Revenco N., Hadjiu S., Moșin V., Barbova N., Halabudenco E., Mișina A., Samoilenco T., Sprincean M. Aspecte clinico-genetice în Sindromul Klinefelter. *Volume LXVII, Supplement Romanian Journal of Pediatrics*. București, România: 2018, p. 130. ISSN 1454-0398.
3. Racoviță S., Moșin V., Gorduza EV., Strătilă M., Halabudenco E., Samoilenco T., Mișina A., Sprincean M. Clinical importance of cytogenetic testing in infertile male. *Supplement Romanian Journal of Rare Diseases, al v-lea Congres de Genetică Medicală cu participare internațională*. Gura Humorului, România: 2018, p 38.
4. Racoviță S., Sprincean M., Halabudenco E., Mișina A., Samoilenco T., Guțuleac R., Chesov E., Revenco N., Moșin V. The cytogenetic study in male infertility. *Materialele Conferinței internaționale, European Human Genetics Conferece*. Milano, Italia: 2018, p. 107.
5. Tihai O., Sprincean M., Hadjiu S., Ețco L., Halabudenco E., Racoviță S., Barbova N., Bejan N., Secieru V., Nour V., Revenco N. Diagnosticul prenatal în sarcina cu risc crescut de malformații congenitale cerebrale. *Volume LXVII, Supplement Romanian Journal of Pediatrics*. București, România: 2018, p. 136. ISSN 1454-0398.
6. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Cemortan I., Badan L., Boiciuc K., Gorduza EV., Sprincean M. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion testing in infertile males. *Supplement Romanian Journal of Rare Diseases*. Timișoara, România: 2019, p. 49.
7. Racoviță S., Capcelea S., Boiciuc K., Moșin V., Revenco N., Hadjiu S., Sprincean M. Clinical and genetic particularities in male infertility. *Supliment la revista de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și adolescentului*. România: 2019, p. 81-82. ISSN 2344-3405.
8. Hadjiu S., Sprincean M., Lupușor N., Grîu C., Racoviță S., Cuzneț L., Feghiu L., Egorov V., Calcii C., Revenco N. Caracteristicile clinice ale sindromul Guillain – barre la copii. *Supliment la revista de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și adolescentului*. România: 2019, p. 41-42. ISSN 2344-3405.
9. Sprincean M., Hadjiu S., Racoviță S., Burac N., Lupușor N., Grîu C., Cuzneț L., Feghiu L., Egorov V., Calcii C., Revenco N. Aspecte clinico genetice în distrofiile musculare progresive. *Supliment la revista de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și adolescentului*. România: 2019, p. 71-72. ISSN 2344-3405.
10. Racoviță S., Moșin V., Sprincean M. Molecular biomarkers of Y chromosome and CFTR gene in infertile males. *Collection of abstracts Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. Cehia, Praga: 2019, p. 89. ISN 2570-5911.
11. Racoviță S., Sprincean M. Defects in spermatogenesis of men with Y chromosome microdeletions. *Abstract book of the 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors, MedEspera*. Chișinău: 2020, p. 290. ISBN 978-9975-151-11-5.

12. Mironiuc N., Racoviță S. Clinical and cytogenetic variations in male infertility caused by Klinefelter syndrome. *Abstract book of the 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors, MedEspera*. Chișinău: 2020, p. 288. ISBN 978-9975-151-11-5.
13. Racoviță S., Patrascu A., Capcelea S., Misina A., Samoilenko T., Sprincean M. Cytogenetic study in male infertility associated with azoospermia and severe oligospermia. *Abstract book of the XIth International Congress of Geneticists and Breeders*. Republic of Moldova: 2021, p. 32. ISBN 978-9975-933-56-8. DOI: 10.53040/cga11.2021.015.
14. Sprincean M., Hadjiu S., Racovita S., Burac N., Sacara V., Lupusor N., Griu C., Revenco N. Clinical-genetic particularities of progressive muscular dystrophies in children. *Abstract book of the XIth International Congress of Geneticists and Breeders*. Republic of Moldova: 2021. p. 62, ISBN 978-9975-933-56-8. DOI: 10.53040/cga11.2021.001.
15. Racoviță S., Moșin V., Gorduza EV., Sprincean M. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion analysis in infertile males with azoospermia. *Supplement Romanian Journal of Laboratory Medicine*. Târgu Mureș, România: 2020, p. 56. ISSN 1841-6624. (IF: 0,945)
16. Sprincean M., Hadjiu S., Racoviță S., Halabundeco E., Revenco N. Prenatal diagnosis in pregnancies with high genetic risk. *Supplement Romanian Journal of Laboratory Medicine*. Târgu Mureș, România: 2020, p. 57. ISSN 1841-6624. (IF: 0,945)
17. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Boiciuc K., Sprincian M. Molecular genetic method for detecting Y chromosome microdeletions in male infertility. *Puplicatia in Catalogue of Posters the 13th Edition of Euroinvent European Exhibition of creativity and inovation*. România: 2021, p. 141.
18. Sprincean M., Hadjiu S., Călcii C., Lupușor N., Racoviță S., Griu C., Feghiu L., Cuzneț L., Revenco N., Groppa S. Immunoenzymatic expressivity of interleukin-6 in pediatric ischemic stroke. *Supplement of the European Stroke Journal*. 2021, p. 396. DOI: 10.1177/23969873211034932.
19. Racoviță S., Moșin V., Capcela S., Gorduza EV., Sprincean M. Semen quality of male partners of infertile couples in Republic of Moldova. *Supplement Romanian Journal of Laboratory Medicine*. Brașov, România: 2022, p. 91-92. ISSN 1841-6624. (IF: 0,945)
20. Racovita S., Sprincean M., Hadjiu S. Neurological impairment and cytogenetic variations in Klinefelter Syndrome. *Abstracts Book of the 8th Congress of the European Academy of Neurology*. Vienna, Austria: 2022, p. 906. ISSN 1468-1331.
21. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Hadjiu S., Revenco N. Genetic variations in male infertility. *Supliment la revista de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și adolescentului*. România: 2022, p. 123. ISSN 2344-3405.
22. Racoviță S., Moșin V., Hadjiu S., Revenco N., Sprincean M. Clinical and cytogenetic polymorphism in Klinefelter Syndrome. *Russian Pediatric Journal: Rusia*, 2022, p. 368. eISSN: 2687-0843
- ✓ în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională
23. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Mișina A., Cemortan I., Sprincean M. Cytogenetic analysis in men with azoospermia. *Abstract book, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău: 2020, p. 56.
24. Racoviță S., Moșin V., Hadjiu S., Mișina A., Sprincean M. Aspecte neurogenetice la bărbații infertili cu Sindromul Klinefelter. *Abstract book, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău: 2020, p. 550.
25. Racoviță S., Moșin v., Hadjiu S., Revenco N., Călcii C., Cuzneț L., Griu C., Feghiu L., Lupusor N., Sprincean M. Neurogenetic aspects in men with Klinefelter's syndrome. *Neuro Congres Issue, Moldovan Medical Journal*. Chișinău: 2021. p. 55. ISSN 2537-6373.
26. Feghiu L., Hadjiu S., Călcii C., Sprincean M., Lupușor N., Griu C., Cuzneț L., Racoviță S., Groppa S. Drug-resistant epilepsies in children: clinical case. *Neuro Congres Issue, Moldovan Medical Journal*. Chișinău: 2021, p. 40. ISSN 2537-6373.
27. Mariana S., Hadjiu S., Lupușor N., Griu C., Cuzneț L., Racoviță S., Feghiu L., Călcii C., Revenco N., Groppa S. Immunoenzymatic changes in ischemic stroke in children. *Neuro Congres Issue, Moldovan Medical Journal*. Chișinău: 2021, p. 25. ISSN 2537-6373
28. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Mișina A., Sprincean M., Clinical and genetic study in male infertility with azoospermia. *Abstract book, Conferința Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță*. Chișinău: 2021, p. 393. ISBN 978-9975-82-223-7.



29. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Sprincean M. Evaluarea clinică și genetică în infertilitatea masculină. Culegere de rezumate, *Conferința Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță*. Chișinău: 2022, p. 12.
30. Racoviță S., Moșin V., Sprincean M. Analysis of Y chromosome microdeletions and CFTR gene mutations as genetic markers in male infertility. *Abstract book, the National Conference with International participation Life sciences in the dialogue of generations*. Chisinau: 2022, p 139.
- **Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții**
- ✓ **Brevet de invenții**
1. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Boiciuc K., Sprincean M. Metodă molecular-genetică pentru depistarea microdelețiilor cromozomului Y în infertilitatea masculină, Brevet de invenție MD 1489 BI. În: *Buletin oficial de proprietate intelectuală* nr. 1/2021. 31.01.2021, pp. 58-59.
- ✓ **Certificate de inovator**
2. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DBY a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 473 din 22.06.2020 acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001.
  3. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS 209 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 474 din 22.06.2020 acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001.
  4. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS237 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 475 din 22.06.2020 acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001.
  5. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS241 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 476 din 22.06.2020 acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001.
  6. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei RBMI a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 477 din 22.06.2020 acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001.
  7. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei USP9Y a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 478 din 22.06.2020 acordat în conformitate cu art. 16 al Legii nr. 138-XV din 10.05.2001.
  8. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DBY a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 5770 din 23.06.2020, înregistrat la USMF „Nicolae Testemițanu”.
  9. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS 209 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 5771 din 23.06.2020, înregistrat la USMF „Nicolae Testemițanu”.
  10. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS237 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 5772 din 23.06.2020, înregistrat la USMF „Nicolae Testemițanu”.
  11. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS241 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 5773 din 23.06.2020, înregistrat la USMF „Nicolae Testemițanu”.
  12. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei RBMI a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 5774 din 23.06.2020, înregistrat la USMF „Nicolae Testemițanu”.
  13. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei USP9Y a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 5775 din 23.06.2020, înregistrat la USMF „Nicolae Testemițanu”.
- ✓ **Acte de implementare**
1. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DBY a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 44 din 22.06.2020.
  2. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS 209 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 45 din 22.06.2020.

3. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS237 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 46 din 22.iunie.2020.
4. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei DYS241 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 47 din 22.06.2020.
5. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei RBM1 a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 48 din 22.06.2020.
6. Racoviță S., Sprincean M., Moșin V., Capcelea S., Sacara V., Boiciuc C. *Metodă molecular-genetică pentru depistarea mutației genei USP9Y a cromozomului Y în infertilitatea masculină*. Nr. 49 din 22.06.2020.

• **Participări cu comunicări la foruri științifice:**

✓  **internaționale**

1. Racoviță S., Moșin V., Gorduza EV., Hadjiu s., Chesov E., Revenco N., Sprincean M. Aspecte clinico-genetice în infertilitate masculină. *Program Școala Medicală Pediatrică cu participare internațională ediția VI*. Iași, România: 15-17 mai 2018, p. 15.
2. Racoviță S., Moșin V., Gorduza EV., Strătilă M., Halabudenco E., Samoilenko T., Mișina A., Sprincean M. Clinical importance of cytogenetic testing in infertile male. *Program al V-lea Congres de Genetică Medicală cu participare internațională*. Gura Humorului, România: 26-28 septembrie 2018, p. 7.
3. Racoviță S., Capcelea S., Boiciuc K., Moșin V., Revenco N., Hadjiu S., Sprincean M., Particularități clinico-genetice în infertilitatea masculină. *Program al XX-lea Congres SNPCAR Societatea de Neurologie și Psihiatrie a Copilului și Adolescentului*, România: 18-21 septembrie, 2019, p. 23.
4. Racoviță S., Sprincean M. Defects in spermatogenesis of men with y chromosome microdeletions. *MedEspera The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Chisinau, Republic of Moldova: 24-26 septembrie, 2020.
5. Racoviță S. Particularități clinice și variații citogenetice în Sindromul Klinefelter. *Al XXI-lea congres SNPCAR și a 43-a conferință de neurologie - psihiatrie a copilului și adolescentului și profesioniști asociați cu participare internațională*. România: 22-25 septembrie, 2021.
6. Racoviță S., Veaceslav M., Capcela S., Gorduza EV., Sprincean M. Semen quality of male partners of infertile couples in Republic of Moldova. *The 13th National Conference of the Romanian Association of Laboratory Medicine, with international participation*. Brașov, România: 25-27 mai, 2022, p. 13.
7. Racoviță S., Sprincean M., Hadjiu S., Revenco N. Variații genetice în infertilitatea masculină *Al XXII-lea congres SNPCAR și a 44-a conferință de neurologie - psihiatrie a copilului și adolescentului și profesioniști asociați cu participare internațională*. România: 21-24 septembrie 2022, p.12.

**Invited speaker**

8. Racoviță S., Moșin V., Gorduza EV, Sprincean M. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion analysis in infertile males with azoospermia. *A –IV Conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România cu Participare Internațională*. Târgu-Mureș, România: 9-11 septembrie, 2020, p. 15.

✓  **la conferințe naționale cu participare internațională**

9. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Ponetenco D., Boiciuc K., Sprincean M. Bărbat 46,XX, raport de caz clinic. *Conferință națională cu participare internațională bienala Chișinău Sibiu, ediția a III-a, interdisciplinaritatea în bolile infecțioase pediatrice*. Chișinău: 16-18 mai 2019, p. 3.
10. Racoviță S., Moșin V., Hadjiu S., Mișina A., Sprincean M. Aspecte neurogenetice în Sindromul Klinefelter. *Congresul Consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău: 21-23 octombrie 2020, p. 35.
11. Racoviță S. Neurogenetic aspects in Klinefelter’s syndrome in men. In program: *The 7th congress of the society of neurologists of the Republic of Moldova with international participation*. Chișinău: 16-18 septembrie 2021, p.9.
12. Racoviță S. Particularitățile polimorfismului clinic și variații citogenetice în sindromul Klinefelter. *Conferința Internațională de Pediatrie „Actualități în practica pediatrică: provocări și succese”*. Chișinău: 16 septembrie 2022, p.3.

✓  **la conferințe naționale**

13. Racoviță S. Identificarea microdelețiilor în cromozomul Y prin multiplex PCR. *Conferință științifică anuală secțiunea nr.1, Probleme fundamentale ale medicinei USMF Nicolae Testemițanu*. Chișinău: 18 octombrie 2018, p. 7.
14. Racoviță S. Particularități clinico-genetice la bărbații cu azoospermie. Conferință științifică anuală *secțiunea nr.1, Probleme fundamentale ale medicinei USMF Nicolae Testemițanu*. Chișinău: 17 octombrie 2019, p.7.

15. Racoviță S. Evaluarea clinică și genetică în infertilitatea masculină. Conferință științifică anuală *secțiunea nr.1, Morfologie normală și patologică USMF Nicolae Testemițanu*. Chișinău: 20 octombrie 2022, p.2.

- **Postere la conferințe științifice**

- ✓ **cu participare internațională**

1. Racoviță S., Revenco N., Hadjiu S., Moșin V., Barbova N., Halabudenco E., Mișina A., Samoilenko T., Sprincean M. Aspecte clinico-genetice în Sindromul Klinefelter. *Conferința Națională de Pediatrie 2018 – Actualități în Pediatrie*. București, România: 22-24 martie, 2018. P085
2. Racoviță S., Sprincean M.; Halabudenco E., Mișina A., Samoilenko T., Guțuleac R., Chesov E., Revenco N., Moșin V. The cytogenetic study in male infertility. *Conferință internațională, European Human Genetics Conference*. Milano Italia: 16-19 iunie, 2018. E-P01.07
3. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Cemortan I., Badan L., Boiciuc K., Gorduza EV., Sprincean M. Cytogenetic and Y chromosome microdeletion testing in infertile males. *Conference of the Romanian Society of Medical Genetics*. Timișoara, România: 18-20 septembrie 2019.
4. Racoviță S., Sprincean M. Defects in spermatogenesis of men with Y chromosome microdeletions. *MedEspera The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Chisinau, Republic of Moldova: 24-26 septembrie 2020.
5. Mironiuc N., **Racoviță S.** Clinical and cytogenetic variations in male infertility caused by klinefelter syndrome. *MedEspera The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Chisinau, Republic of Moldova: 24-26 septembrie 2020.
6. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Boiciuc K., Sprincean M. Molecular genetic method for detecting Y chromosome microdeletions in male infertility. *The 13th Edition of Euroinvent European Exhibition of creativity and inovation*. Iași, România, 22 mai 2021.
7. Racoviță S., Sprincean M., Hadjiu S. Neurological impairment and cytogenetic variations in Klinefelter Syndrome. Congress of the European Academy of Neurology. Viena, Austria: 25-26 iunie 2022. EPV-613

- ✓ **naționale cu participare internațională**

8. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Ponetenco D., Boiciuc K., Sprincean M. Bărbat 46,XX, Raport de caz clinic. *Conferință națională cu participare internațională Bienala Chișinău Sibiu, ediția a III-a, interdisciplinaritatea în bolile infecțioase pediatrice*. Chișinău: 16-18 mai 2019.
9. Racoviță S., Moșin V., Hadjiu S., Mișina A., Sprincean M. Aspecte neurogenetice în Sindromul Klinefelter. *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău: 21-23 octombrie 2020, p. 48.
10. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Mișina A., Cemortan I., Sprincean M. Investigații citogenetice la bărbații cu azoospermie. *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău: 21-23 octombrie 2020, p. 22.
11. Racoviță S., Moșin V., Capcelea S., Mișina A., Sprincean M. Studiu clinico-genetic în infertilitatea masculină cu azoospermie. *Conferinței științifice consacrate aniversării a 76-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Chișinău: 20-22 octombrie 2021, p. 40.

## DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

de conformitate asupra originalității lucrării

Subsemnata, Racoviță Stela, studentă doctorandă la Programul de doctorat 315.02 – biologie moleculară și genetică medicală, la catedra de Biologie moleculară și genetică umană declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctor în științe medicale cu titlul „*Variații genetice în infertilitatea masculină cu azoospermie* ” sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice.

De asemenea, declar că toate sursele bibliografice utilizate, inclusiv cele de pe internet, sunt indicate în lucrare, cu respectarea regulilor de evitare a plagiatului/autoplagiului:

- reformularea, în cuvinte proprii, a textelor scrise de către alți autori indică sursa bibliografică din care s-a inspirat;
- rezumarea ideilor altor autori deține referința precisă la textul original;
- reprezentările grafice, tabelele care nu-mi aparțin au indicată sursa bibliografică exactă;
- în cazul în care, în calitate de (co)autor, am prezentat deja o parte din această lucrare în cadrul unor manifestări științifice din țară sau străinătate, am folosit autocitarea;
- realizarea statistică, tabelele, graficele sunt realizate de mine, iar comentarea rezultatelor obținute este originală.

Prin prezenta, îmi asum în totalitate originalitatea lucrării elaborate.

Numele și prenumele

*Racoviță Stela*

Semnătura \_\_\_\_\_

Data 24. 02. 2023

## CURRICULUM VITAE

DATE PERSONALE Racoviță Stela



📍 MD-2008, Chișinău, Ghiocilor 2/3, ap. 205, Republica Moldova

☎ +373 69580223

✉ [stela.racovita@usmf.md](mailto:stela.racovita@usmf.md)

Sex F | data, luna, anul nașterii 01.09.1988

Experiența profesională	
2016 – prezent	Asistent universitar la catedra de biologie moleculară și genetică umană.
	Locație - Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”.
	Activitate didactică și științifică la disciplina biologie moleculară și genetică medicală. Subiecte: macromolecule; membrane biologice; transcriere; translație; replicare; tehnici de genetică moleculară; boli cromozomiale; monogenice; multifactoriale etc.
2023 – prezent	Executor proiect - Phage treatment and wetland technology as intervention strategy to prevent dissemination of antibiotic resistance in surface waters (PhageLand).
	Locație - Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”.
	Activitate științifică cu abordarea subiectelor de genetică moleculară.
2017 – 2022	Studentă doctorandă la specialitatea 315.02 biologie moleculară și genetică medicală.
	Locație - Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, Școala doctorală în domeniul științelor medicale.
	Activitate: consilierea genetică a cuplurilor cu tulburări de reproducere, în special cu infertilitate masculină, candidate la TRA (Tehnicile de reproducere asistată) cum ar fi: ICSI (Injecția intracitoplasmatică de spermă); micro TESE - (Extragerea microchirurgicală de spermă), etc.
2013 – 2014	Medic microbiolog
	Locație - Laboratorul Centrului Epidemiologia Bolilor Extrem de Contagioase și Securitate Biologică din cadrul Centrului Național de Sănătate Publică, Chișinău, RM.
	Activitate: implicată în prevenirea, diagnosticarea și controlul răspândirii maladiilor infecțioase; monitorizarea și identificarea microorganismelor, folosind o varietate de metode de identificare, inclusiv tehnici moleculare.
2012 – 2013	Felcer laborant microbiologie
	Locație - Laboratorul Centrului Epidemiologia Bolilor Extrem de Contagioase și Securitate Biologică din cadrul Centrului Național de Sănătate Publică, Chișinău, RM.
	Activitate: identificarea organismelor pentru a ajuta la analizarea și susținerea răspunsului la infecție, antibioticograma, prepararea culturilor din microorganisme, etc.
2010 – 2011	Asistent medical
	Locație – Departamentul Medicină de Urgentă pentru Copii a Spitalului Clinic Municipal pentru Copii „V. Ignatenco”.
	Activitate: asistență în intervenții chirurgicale planificate și urgente.
Educație	
2012-2014	Medic rezident, specialitatea microbiologie
	Instituție - Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”
	Activitate: studierea microorganismelor, cum ar fi bacteriile, virusurile, ciupercile și aspectele clinice ale microorganismelor, inclusiv răspunsul gazdei la acești agenți infecțioși.
2006-2012	Licențiat în Medicină, facultatea de Sănătate Publică
	Instituție - Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”

	Activitate: Studiarea disciplinelor precum: genetica; anatomia; fiziologia; biochimia; chirurgie; pediatrie etc., care au contribuit la pregătirea mea profesională ca viitor medic.				
2006	Diploma de liceu				
	Liceul republican cu profil real din Chișinău din Moldova				
	Activități curriculare și extra curriculare (conferințe, voluntariat, activități artistice).				
<b>Abilități</b>					
Limba maternă	Română				
Limbi străine	ÎNȚELEGERE		VORBIRE		SCRIERE
	Ascultare	Citire	Conversație	Vorbire orală	
Rusa	avansat	avansat	avansat	Upper-intermediated	Upper-intermediate
Engleza	Upper-intermediate	avansat	Upper-intermediate	Upper-intermediate	Upper-intermediate
Franceza	Pre-intermediate	Intermediate	Intermediate	Intermediate	Pre-intermediate
Permis de conducere	Categororia B				
Stagieri/ cursuri					
03.02.2020 - 28.02.2020	Stagiu practic la Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa, Iași la Catedra de Genetică și Genetică Medicală.				
30.09.2019 - 13.07.2020	Curs Psihopedagogie în învățământului superior, USMF „Nicolae Testemițanu”, 1800 ore. Seria ACR Nr. 000021262				
23 iunie 2017	Obținerea Nivelul B2 de limbă engleză. Cadrul european comun de referință pentru limbi, Universitatea de Stat din Moldova, Departamentul de educație continuă, certificat nr.LS589 / 17, Chișinău, Republica Moldova.				
<b>Participări la conferințe și congrese științifice</b>					
	<p><b>21-24 septembrie 2022.</b> Al XXII-lea congres SNPCAR și a 44-a conferință de neurologie - psihiatrie a copilului și adolescentului și profesioni asociate cu participare internațională, România.</p> <p><b>16 septembrie 2022.</b> Conferința Internațională de Pediatrie „Actualități în practica pediatrică: provocări și succese”, Chișinău.</p> <p><b>25-27 mai 2022.</b> A –XIII-a conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România cu Participare Internațională, România.</p> <p><b>20-22 octombrie 2021.</b> Conferință științifică consacrată aniversării a 76-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.</p> <p><b>16-18 septembrie 2021.</b> Al VII-lea congres al Societății Neurologilor din Republica Moldova cu participare internațională, Chișinău.</p> <p><b>22-25 septembrie 2021.</b> Al XXI-lea congres SNPCAR de neurologie și psihiatrie a copiilor și adolescenților, România.</p> <p><b>22 mai 2021.</b> Ediția a XIII-a a Expoziției Europene de creativitate și inovație Euroinvent, Iași, România.</p> <p><b>21-23 octombrie 2020.</b> Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.</p> <p><b>24-26 septembrie 2020.</b> Al 8-lea congres internațional de medicină pentru studenți și tineri medici MedEspera, Chișinău.</p> <p><b>9-11 septembrie 2020.</b> A –IV-a Conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România cu Participare Internațională, România.</p> <p><b>18-20 septembrie 2019.</b> Conferința Societății Române de Genetică Medicală, Timișoara, România.</p> <p><b>16-18 mai 2019.</b> Conferință națională cu participare internațională Bienala Chișinău Sibiu, ediția a III-a, Interdisciplinaritatea în bolile infecțioase pediatrice, organizată de Societatea de Pediatrie</p>				

	<p>din Moldova în comun cu Facultatea de Medicină a Universității „Lucian Blaga” din Sibiu, România.</p> <p><b>17 octombrie 2019.</b> Conferința științifică anuală „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.</p> <p><b>18-21 septembrie 2019.</b> Congresul al XX-lea Societatea SNPCAR de Neurologie și Psihiatrie a Copiilor și Adolescenților, România.</p> <p><b>18 octombrie 2018.</b> Conferința științifică anuală „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.</p> <p><b>26-28 septembrie 2018.</b> Al V-lea Congres în Genetica Medicală cu participare internațională din Gura Humorului, România.</p> <p><b>16-19 iunie 2018.</b> Conferința Europeană de Genetică Umană, Milano, Italia.</p> <p><b>16 mai 2018.</b> Conferință Școala Medicală de Pediatrie, Iași, România.</p> <p><b>21-24 martie 2018.</b> Conferința Națională de Pediatrie, București, România.</p> <p><b>18-20 octombrie 2017.</b> Conferința științifică anuală „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.</p> <p><b>25 aprilie 2013.</b> Cursul de instruire „Aplicarea mediilor de cultura si tehnicilor performante OXOID în domeniul diagnosticului de laborator, Chișinău.</p> <p><b>27 septembrie 2013.</b> Simpozionul de instruire pentru fortificarea capacităților de supravegherea și răspuns la riscurile pentru sănătatea publică de origine biologică, Chișinău.</p> <p><b>16-20 septembrie 2011.</b> Programul European TEMPUS „Master Programmers in Public Health and Social services”, Chișinău.</p>
Publicații	<p>54 lucrări științifice, inclusiv: 19 articole, dintre care 7 în reviste din baze de date internaționale, (1 articol în revistă citată SCOPUS, 1 articole cu Impact Factor); 12 articole în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, (categoria B+, B, C); 24 teze în lucrările conferințelor și congreselor științifice internaționale și 11 naționale.</p>
Acte de proprietate	<p>1 Brevet de invenție, 12 certificate de inovator, 6 acte de implementare.</p>
Distincții/ Premii	<p><b>Laureat al concursului „profesorul anului 2022”.</b> Acordat de USMF „Nicolae Testemițanu”.</p> <p><b>Bursa de excelență a guvernului pe anul 2022.</b> În temeiul art. 19 alin. (4) din Codul educației al Republicii Moldova nr. 152/2014 (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2014, nr. 319-324, art. 634), cu modificările ulterioare, și al art. 49 lit. g) din Codul cu privire la știință și inovare al Republicii Moldova nr. 259/2004 (republicat în Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2018, nr. 58-66, art. 131).</p> <p><b>Diplomă medalia de aur.</b> Salonul Internațional de Invenții TRAIAN VUIA 2021, Timișoara, România, 06-08 octombrie 2021.</p> <p><b>Diplomă de excelență și medalie de aur.</b> A-XIX-a ediție a Salonului Cercetării Științifice, Inovării și Invenției PROINVENT 2021, Cluj Napoca, România, 20-22 octombrie 2021.</p> <p><b>Diplomă medalie de argint.</b> Ediția a XIII-a a Expoziției Europene de creativitate și inovație EUROINVENT, Iași, România, 22 mai 2021.</p> <p><b>Diplomă medalie de argint.</b> A 25-a Expoziție Internațională de Invenții INVENTICA, Iași, România, 23-25 iunie 2021.</p> <p><b>Laureat al concursului „performanțe în cercetare”.</b> Pentru ciclul de lucrări în domeniul „Variații genetice în infertilitatea masculină cu azoospermie”. În cadrul congresului consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”. 21-23 octombrie 2020.</p> <p><b>Premiu acordat de SRGM pentru lucrarea poster intitulată - Cytogenetic and Y chromosome microdeletion testing in infertile males.</b> The XI Conference of the Romanian Society of Medical Genetics Timișoara, 18-20 septembrie 2019.</p> <p><b>II nd Place Award Certification</b> for outstanding achivemment durig the oral presentation at the 8th edition of MedEspera International Congres for Students adn Young Doctors, Defects in spermatogenesis of men with Y chromosome microdeletions, Chișinau Republic of Moldova, 24-26 septembrie, 2020.</p>