

SỰ SINH TINH: MỐI LIÊN QUAN QUÁ TRÌNH GÂY TỔN THƯƠNG VÀ QUÁ TRÌNH TỰ SỬA CHỮA TỔN THƯƠNG DNA TRONG VÔ SINH NAM

Lê Văn Khánh, Lưu Thị Minh Tâm
Bệnh viện Đa khoa Mỹ Đức

Từ khóa: Apoptosis; DNA damage; DNA repair mechanisms; male infertility; spermatogenesis.
Keywords: Apoptosis; DNA damage; DNA repair mechanisms; male infertility; spermatogenesis.

Tóm tắt

Sự sinh tinh là một chuỗi các quá trình phức tạp của sự tăng sinh và biệt hóa kéo dài suốt từ khi những tế bào mầm sinh dục nam trải qua các quá trình nguyên phân, giảm phân và sau cùng là quá trình trưởng thành để tạo thành những tế bào tinh trùng trưởng thành. Có nhiều yếu tố vật lý, hóa học, sinh học có nguồn gốc nội sinh và cả ngoại sinh ảnh hưởng đến quá trình này. Mặt khác, cơ chế sửa chữa DNA là cơ chế góp phần bảo vệ giúp cho bộ gen của tinh trùng có được sự ổn định và toàn vẹn. Trải qua suốt quá trình sinh tinh, tại các thời điểm khác nhau của tế bào dòng tinh, có nhiều cơ chế sửa chữa DNA xảy ra như sửa chữa bằng cắt bỏ nucleotide, sửa chữa bằng cắt bỏ base, sửa chữa bất cặp không tương thích, sửa chữa đứt gãy DNA mạch đôi và sửa chữa sau sao chép. Nội dung của bài tổng quan sau xin trình bày về nguồn gốc của tổn thương DNA và cơ chế sửa chữa DNA của quá trình sinh tinh từ đó làm rõ hơn vai trò của cơ chế sửa chữa DNA trong suốt quá trình sinh tinh.

Từ khóa: apoptosis; DNA damage; DNA repair mechanisms; male infertility; spermatogenesis.

Abstract

Spermatogenesis is a complex process of proliferation and differentiation during male germ cell development involving mitosis, meiosis and spermiogenesis. Endogenous and exogenous physical, chemical and biological sources modify the genome of spermatozoa. The genomic integrity and stability of the sperm is protected by DNA repair mechanisms. In the male germline cells, DNA repair mechanisms include nucleotide excision repair, base excision repair, DNA mismatch repair, double strand break repair and post-replication repair. In this review article, the process of spermatogenesis, origin of DNA damage and DNA repair

Tác giả liên hệ (Corresponding author):
Lê Văn Khánh,
email: drlevankhanh@gmail.com
Ngày nhận bài (received): 19/9/2016
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):
23/10/2016
Ngày bài báo được chấp nhận đăng
(accepted): 30/12/2016

mechanisms are examined closely to gain a better understanding of the role of DNA repair mechanisms during spermatogenesis.

Key words: apoptosis; DNA damage; DNA repair mechanisms; male infertility; spermatogenesis.

1. Đại cương

Sự sinh tinh là một chuỗi các quá trình phức tạp với mục đích tạo ra những con tinh trùng trưởng thành có khả năng thụ tinh với noãn. Chuỗi quá trình này được diễn ra trong lòng ống sinh tinh của tinh hòa và tại mào tinh (1, 2, 3). Sự toàn vẹn trong DNA của tinh trùng giúp tạo ra những tinh trùng trưởng thành, di động bình thường (4, 5, 6, 7).

Quá trình sinh tinh trùng ở người kéo dài khoảng 70 ± 4 ngày, gồm 3 giai đoạn là giai đoạn tinh nguyên bào, giai đoạn tinh bào và giai đoạn tinh tử (8). Ở giai đoạn tinh nguyên bào, các tinh nguyên bào nằm ở phần nền của biểu mô ống sinh tinh nguyên phân liên tục để gia tăng số lượng tế bào. Tiếp theo đến giai đoạn tinh bào, các tinh nguyên bào sẽ đi vào quá trình giảm phân để tạo thành các tinh bào bậc I và sau đó là tinh bào bậc II. Trong quá trình này, có hai quá trình quan trọng diễn ra là sự giảm số lượng NST và sự tái tổ hợp chất liệu di truyền giữa các chromatid nhằm làm tăng sự đa dạng của đặc tính di truyền. Cuối cùng là giai đoạn tinh tử hay còn là giai đoạn hậu phân bào hoặc là giai đoạn biệt hóa. Ở giai đoạn này, các tinh tử sẽ được trải qua 2 quá trình quan trọng nhất là hình thành thể cực đầu và đuôi cùng một số biến đổi quan trọng ở màng bào tương, ty thể, nhân tế bào. Kết thúc quá trình biệt hóa, tinh trùng được hình thành với hình dạng, cấu trúc đặc thù ở mức độ biệt hóa cao nhằm đảm bảo thực hiện chức năng của giao tử đực ở người. (9)

Gốc oxy hóa tự do (Reactive oxygen species - ROS), quá trình đóng gói sợi nhiễm sắc bất thường và sự chết có chương trình của tế bào là những nguyên nhân gây ra những tổn thương trong DNA của tinh trùng (10). Bên cạnh đó, trong dòng tế bào mầm của nam giới có 5 cơ chế chính giúp

sửa chữa các tổn thương này là sửa chữa bằng cắt bỏ nucleotide (nucleotide excision repair - NER), sửa chữa bằng cắt bỏ base (base excision repair - BER), sửa chữa bắt cặp không tương thích (DNA mismatch repair - MMR), sửa chữa đứt gãy DNA mạch đôi (double strand break repair) và sửa chữa sau sao chép. Nội dung của bài tổng quan sau xin trình bày khái quát về các cơ chế gây tổn thương cũng như những cơ chế giúp chỉnh sửa tổn thương DNA trong quá trình sinh tinh.

2. Nguồn gốc tổn thương DNA và vô sinh nam

Tổn thương DNA tinh trùng được phân loại dựa vào vị trí nhận diện tổn thương AP (abasic site), sự biến đổi base, đứt gãy DNA mạch đơn hay mạch đôi và các cầu nối chéo protein. Có 3 giả thuyết về nguyên nhân gây ra các tổn thương DNA tinh trùng là do các gốc oxy hóa tự do (ROS), do quá trình đóng gói sợi nhiễm sắc hay do quá trình chết tế bào.

Gốc oxy hóa tự do (ROS)

Các gốc này đều có chứa nguyên tử oxy như hydrogen peroxide (H_2O_2), gốc hydroxyl (OH.), nitric oxide (NO), hypochlorous (HOCl). Nguồn gốc các gốc này có thể là nội sinh hoặc ngoại sinh. Các tác nhân ngoại sinh ví dụ như phóng xạ, thuốc lá, ô nhiễm không khí, ... Tác nhân nội sinh đến từ hoạt động hô hấp của ti thể, từ hệ thống các enzyme như xanthine oxidase và NADPH oxidase (4).

Sự hiện diện nồng độ cao các gốc tự do này làm giảm khả năng di động của tinh trùng, ảnh hưởng khả năng thụ tinh và gây tổn thương DNA (11). 20 – 88% những người đàn ông giảm khả năng sinh sản có sự hiện diện nồng độ ROS cao trong tinh dịch.

Đóng gói sợi nhiễm sắc

Ở DNA tinh trùng người 90-95% protein histone sẽ được thay thế bằng protamine, một loại protein nhỏ giàu arginine. Sự protamine hóa của sợi nhiễm sắc giúp cho việc nén chặt của vật chất di truyền cần thiết cho sự di động cũng như giúp bảo vệ bộ gen khỏi quá trình oxi hóa hay các phân tử gây hại đến hệ thống sinh sản nam giới (12).

Sự thay thế bởi protamine diễn ra trong suốt quá trình sinh tinh. Sự acetyl hóa quá mức của đuôi histone làm nới lỏng cấu trúc sợi nhiễm sắc và dễ làm cho DNA bị đứt gãy do enzyme topoisomerase giúp cho histone tách ra và thay thế bằng protein chuyển tiếp (10).

DNA topoisomerase gắn cộng hóa trị vào DNA phosphate do đó làm đứt liên kết phosphodiester ở mạch đơn hay mạch đôi DNA và cầu nối phosphodiester hình thành lại một cách ngẫu nhiên. Một số tác nhân có thể ức chế sự nối và thường những đứt gãy ngẫu nhiên sẽ không thể được sửa chữa.

Sự chết theo chương trình của tế bào

Trong suốt quá trình sinh tinh, sự chết theo chương trình của tế bào (Apoptosis) giúp giới hạn kích thước quần thể tế bào mầm và giúp duy trì tỉ lệ ổn định của tế bào mầm và tế bào Sertoli (13). Thành thạo một số tế bào đã được mặc định đi vào quá trình chết này sẽ thoát khỏi và trở lại trong tinh dịch khi xuất tinh.

Các con đường apoptosis

Con đường bên trong tế bào: Các tác nhân oxi hóa gây sự mất cân bằng oxi hóa ở tinh trùng và khởi sự con đường chết bên trong tế bào do tỉ lệ mất vai trò chính. Protein BH3 hoạt hóa Bax và Bak là 2 protein tiền quá trình chết tế bào, ức chế Bcl-2 và Bcl-X1. Sự hoạt hóa của những protein tiền chết tế bào sẽ dimer hóa hoặc chèn vào màng ti thể gây ra sự rò rỉ của cytochrome C. Khi cytochrome C lọt ra ngoài sẽ kích hoạt caspase-9, kết quả là hình thành thác caspase và sự phân cắt nhân (14).

Con đường bên ngoài tế bào: Liên quan đến sự hoạt hóa thụ thể Fas gắn với Fas-ligand (FasL) biểu hiện trên tế bào lympho T. FasL gắn vào sẽ dẫn đến sự trimer hóa thụ thể Fas và điều này điều khiển mộ caspase-8. Chu trình chết tế bào sẽ được kích thích bằng 2 cách song song: phân cắt và

hoạt hóa caspase-3 ngay lập tức hoặc phân cắt họ protein Bcl-2 liên quan con đường ti thể đã đề cập. Có một sự liên quan giữa chất lượng tinh trùng và thụ thể Fas, ở mẫu tinh trùng khỏe mạnh có ít hơn 10% thụ thể Fas và có hơn 50% ở mẫu tinh trùng OAT (15).

3. Cơ chế sửa chữa DNA

Sửa chữa bằng cách cắt bỏ nucleotide

Cơ chế sửa chữa bằng cách cắt bỏ nucleotide (NER) hoạt động khi có những tổn thương như pyrimidine dimer (chủ yếu do base T và C nối cộng hóa trị với nhau) bị gây ra do tác nhân tia UV, bắt cặp base sai hay nối chéo ở bên trong mạch DNA (16).

Đứt gãy DNA được kiểm tra và phát hiện bởi 30 protein khác nhau trong cơ chế NER. Cơ chế này gồm 2 con đường phụ là GG-NER (global genome NER) và TC-NER (transcription coupled NER). Mỗi con đường nhận diện sai hỏng khác nhau: GG-NER chịu trách nhiệm cho tổn thương DNA và TC-NER phát hiện tổn thương ở mạch mã hóa của các gen được phiên mã tích cực.

Ở con đường GG-NER, tổn thương DNA được phát hiện bởi protein XPC hoặc RAD23B. Con đường TC-NER được hoạt hóa do sự biến dạng của DNA dẫn đến khóa sự kéo dài của phức hợp RNA polymerase II (17).

DNA tháo xoắn cho phép gắn protein XPA giúp sao chép đoạn DNA chứa protein A thành sợi thứ cấp cho việc nhận diện tổn thương. Các enzyme phân cắt nucleotide trong một mạch sẽ cắt DNA tại vị trí sai hỏng. Cuối cùng vị trí bị cắt trên sẽ được lấp đầy, nối lại bởi DNA polymerase và DNA ligase.

Cơ chế NER được tìm thấy ở các bệnh tự miễn như xeroderma pigmentosum, hội chứng Cockayne và bệnh Trichothiodystrophy. Những bệnh trên được phân loại dựa trên các dấu hiệu như mất cảm ánh sáng mặt trời, có nguy cơ cao mắc ung thư da, bất thường thần kinh và phát triển giới tính không hoàn thiện ở người lớn.

Những tác nhân nội bào và ngoại bào gây ra một loạt sai hỏng DNA trong suốt quá trình sinh tinh và cơ chế sửa chữa DNA bằng con đường NER thật sự rất cần thiết.

Sửa chữa bằng cách cắt bỏ base

Con đường này được nhận diện và phân loại khi có sự tổn thương base. 8-hydroxy 2'oxoguanine (8OHdG) sẽ bắt cặp với adenine hoặc cysteine trong suốt quá trình sao chép DNA và dẫn đến đột biến chuyển hoán G:C thành T:A sau dịch mã.

Enzyme DNA glycosylases phát hiện sự biến đổi tại một base và phân cắt cầu nối N-glycosidic của base hư hỏng để tạo thành gốc đường deoxyribose. Việc phân cắt này dẫn đến mất base trong bộ khung đường-phosphate của DNA và sẽ là vị trí nhận diện của apurinic hay apyrimidinic (AP site) và vị trí này sẽ được phân cắt bởi apurinic/apyrimidinic endonuclease (AP endonuclease). Kết quả hình thành khoảng trống trên một mạch và sau đó sẽ được nối lại bởi DNA ligase III hoặc DNA ligase I tùy theo đoạn cắt chứa một base sai hỏng là ngắn hay dài (18).

8-hydroxy 2'oxoguanine (8OHdG) là một base được sinh ra trong quá trình mất cân bằng oxi hóa ở DNA tinh trùng. 8-oxoguanine glycosylase 1 (OOG1) cắt 8OHdG và tạo ra vị trí AP trong tinh trùng. Sau đó, AP endonuclease chọn trên khung sườn phosphate của DNA để chèn vào một nucleotide không bị biến đổi ở tế bào sinh dưỡng và tế bào noãn.

Ở tinh trùng không có enzyme apyrimidinic endonuclease 1, những vị trí AP được tạo ra trên DNA do OOG1 sẽ được sửa chữa trong pha S của lần nguyên phân đầu tiên của hợp tử (13).

Sửa chữa bắt cặp không tương thích

Bắt cặp không tương thích bao gồm G-T hoặc A-C. Sửa chữa bắt cặp không tương thích (MRM) giúp tăng sự chính xác trong quá trình sao chép DNA lên khoảng 100 lần và ngăn chặn sự không ổn định của bộ gen.

Ở động vật có vú, MMR liên quan đến cơ chế sao chép DNA giúp dễ dàng phân biệt mạch nhanh và đoạn Okazaki có điểm kết thúc 5' tự do ở mạch chậm thông qua việc gắn của kháng nguyên proliferating cell nuclear (PCNA) (vai trò như giàn giáo để gắn các protein liên quan đến sao chép DNA, sửa chữa DNA).

MutS có đồng đẳng là MSH1-6 và MutL có đồng đẳng là MLH1-MLH3, PMS1 và PMS2 hình thành nên dạng heterodimers (19) cho thấy sự bất ổn định trong bộ gen và phát hiện MLH1 hay MSH2 ở những bệnh nhân vô tình không do bé tấc.

MSH4 và MSH5 đóng vai trò quan trọng trong quá trình tái tổ hợp của giảm phân. Có 2 dạng heterodimers đồng đẳng của MutS: Dạng 1 là MutSa (MSH2/MSH6); Dạng 2 là MutSb (MSH2/MSH3). Sự liên kết của MutL với phức hợp MutS-DNA hoạt hóa MutH-tác nhân tạo khoảng trống ở mạch con và giúp chiêu mộ DNA helicase gây đứt liên kết với mạch đôi DNA.

Bốn protein quan trọng trong MMR gồm MLH1, MLH2, MSH4 và RAD51 liên quan đến vô sinh nam. Gen MLH3 mã hóa cho protein sửa chữa DNA tương tác với MLH1. MLH1 và MLH3 cần thiết cho quá trình tái tổ hợp và sự phân chia ở những nơi bắt chéo của các nhiễm sắc thể tương đồng ở các giai đoạn sợi dày (pachytene) và sợi kép (diplotene). Sự vắng mặt hoặc thiếu hụt của những gene này có liên quan đến sự thất bại của quá trình sinh giao tử do sự giảm phân ngừng lại ở giai đoạn sợi dày làm giảm số lượng vị trí bắt chéo (19).

Một thí nghiệm của Mukherjee và cộng sự (2010) làm mất đoạn gene MLH1 dẫn đến sự mất ổn định bộ gen và gây vô sinh ở chuột đực. Một nghiên cứu khác chỉ ra kiểu hình của gene MLH1 và PMS2 liên quan đến vô sinh ở nam giới và đứt gãy DNA tinh trùng (20).

Sửa chữa đứt gãy DNA mạch đôi

Có nhiều nhân tố gây đứt gãy DNA mạch đôi bao gồm ROS, thất bại trong quá trình sao chép và sửa chữa DNA, quá trình tái tổ hợp, giảm phân hay các tác nhân hóa học và tác nhân phóng xạ ion hóa. Đứt gãy mạch đôi DNA không thể sửa chữa có thể dẫn đến quá trình chuyển vị, dung hợp DNA và chết tế bào. Tái tổ hợp tương đồng và cơ chế kết nối đầu đuôi có tính chất không tương đồng (Non-homologous end-joining - NHEJ) sẽ sửa chữa các đứt gãy DNA mạch đôi.

Tái tổ hợp tương đồng

Cơ chế sửa sai thông qua tái tổ hợp tương đồng là một cơ chế giải phóng sai sót có tác dụng chủ yếu trong suốt giai đoạn pha S của kì giữa và pha G2. Trong quá trình này, đứt gãy DNA mạch đôi được bảo vệ khỏi hoạt động phân cắt của enzyme exonuclease bằng cách gắn vào mạch phức hợp protein Rad51 là một đồng đẳng của protein RecA ở E. Coli. Đột biến Ataxia telangiectasia (ATM) và phức hợp MRE11-RAD50-NBS1 được hoạt hóa bởi đứt gãy mạch đôi DNA và tạo ra đầu 3'-DNA

mạch đơn bằng cách cắt bỏ đoạn cuối của DNA bị đứt gãy thông qua sự tương tác với protein gắn có tận cùng là gốc carboxyl. Đuôi DNA mạch đơn được bao bởi protein A để tránh phá vỡ cấu trúc thứ cấp, sự tái tạo protein A được thay thế bởi trình tự tương đồng RAD51 trên nhiễm sắc thể chị em. RAD51C tương tác với BRCA2 hình thành phức hợp đối tượng đồng. Nghiên cứu chỉ ra rằng sự biến đổi trong tái tổ hợp tương đồng có liên quan đến sự vô sinh. Đàn ông mắc phải Ataxia telangiectasia sẽ có hiện tượng vô tinh (azoospermia) và teo tuyến sinh dục do thất bại trong quá trình hình thành tinh bào ở giai đoạn sợi mảnh (leptotene) đến sợi kết hợp (zygotene). Đột biến ở vùng MRE11 cũng sẽ khóa giai đoạn tái tổ hợp trong giảm phân.

Kết nối đầu cuối có tính chất không tương đồng

Cấu trúc dị dimer Ku70 và Ku80 nhận diện, gắn vào đứt gãy mạch đôi DNA và chiêu mộ protein kinase. Khi Ku70 và Ku80 gắn vào sẽ chiêu mộ phức hợp MRE11. Phức hợp MRE11 gây ra sự loại bỏ điểm cuối không có khả năng nối trên DNA bằng một cơ chế chuyển vị bên trong thông qua sự sao chép bởi DNA polymerase và quá trình nối để tạo thành điểm kết thúc phù hợp.

Tài liệu tham khảo

1. Chocu, S., Calvel, P., Rolland, A.D., Pineau, C. Spermato-genesis in mammals: proteomic insights. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2012; 58, 179–190.
2. Nussbaum, R., McInnes, R.R., Willard, H.F., Hamosh, A. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*, seventh ed. Saunders; 2007
3. Xiao, X., Mruk, D.D., Cheng, C.Y. Intercellular adhesion molecules (ICAMs) and spermatogenesis. *Hum. Reprod. Update*; 2013; 19, 167–186.
4. Ménéz, Y., Dale, B., Cohen, M. DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review. *Zygote*; 2010; 18, 357–365.
5. de Rooij, D.G., Russell, L.D. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *J. Androl.* 2000; 21, 776–798.
6. Mahmoud, H. Concise review: spermatogenesis in an artificial three-dimensional system. *Stem Cells*; 2012; 30, 2355–2360.
7. Simhadri, S., Peterson, S., Patel, D., Huo, Y., Cai, H., Bowman- Colin, C., Miller, S., Ludwig, T., Ganesan, S., Bhaumik, M., Bunting, S., Jasin, M., Xia, B. Male fertility defect associated with disrupted BRCA1-PALB2 interaction in mice. *J. Biol. Chem.* 2014; 289, 24617–24629.
8. Mortimer, D. Sperm physiology. In: Mortimer D, ed. *Practical laboratory andrology*. Oxford University Press; 1994; 13–39
9. Lê Hồng Thụy Khả, Hồ Mạnh Tường., Sự sinh tinh. Trong: Hồ Mạnh Tường – Đặng Quang Vinh – Vương Thị Ngọc Lan chủ biên. *Thụ tinh trong ống nghiệm, Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam*; 2011; 41-48.
10. Gunes, S., Al-Sadaan, M., Agarwal, A. Spermato-genesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. *RBM online*; 2015; 31, 309–319.
11. Sharma, R., Masaki, J., Agarwal, A. Sperm DNA fragmentation

4. Kết luận

Sinh tinh trùng là một quá trình phức tạp bao gồm nguyên phân, giảm phân, biệt hóa và trưởng thành nhằm tạo ra những tế bào tinh trùng đảm bảo chức năng di truyền. Trong những quá trình đó, nhiều nguyên nhân từ môi trường và nguyên nhân về mặt di truyền có thể gây nên những bất thường từ đó gây ra vô sinh nam. Với những thành tựu mới trong lãnh vực di truyền, ngày càng có nhiều nguyên nhân, cơ chế gây nên những bất thường trong quá trình sinh tinh trùng được làm rõ. Ngoài trừ việc phải có những cơ chế để chống chọi với những tác động từ môi trường bên ngoài, những tế bào sinh tinh cũng đồng thời phải có những cơ chế để phục hồi những tổn thương DNA để duy trì khả năng sinh sản. Tuy vẫn còn nhiều điểm chưa được làm sáng tỏ nhưng những mối liên quan giữa sự bất thường của những quá trình tự sửa chữa tổn thương DNA của tinh trùng và vô sinh nam đã được chứng minh. Do đó, cần nhiều nghiên cứu hơn nữa để chứng minh, làm rõ sự hữu ích của những gene, protein đặc biệt trong quá trình tự sửa chữa DNA nhằm phát triển những kỹ thuật hỗ trợ cho quá trình này.

- analysis using the TUNEL assay. *Methods Mol. Biol.* 2013; 927, 121–136.
12. Torregrosa, N., Dominguez-Fandos, D., Camejo, M.I., Shirley, C.R., Meistrich, M.L., Balleca, J.L., Oliva, R. Protamine 2 precursors, protamine 1/protamine 2 ratio, DNA integrity and other sperm parameters in infertile patients. *Hum. Reprod.* 2006; 21, 2084–2089.
13. Aitken, R.J., Baker, M.A. Oxidative stress, spermatozoa and leukocytic infiltration: relationships forged by the opposing forces of microbial invasion and the search for perfection. *J. Reprod. Immunol.* 2013; 100, 11–19.
14. Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. *Robbins Basic Pathology*, ninth ed. Saunders; 2012.
15. Sakkas, D., Mariethoz, E., St John, J.C. Abnormal sperm parameters in humans are indicative of an abortive apoptotic mechanism linked to the Fas-mediated pathway. *Exp. Cell Res.* 1999b; 251, 350–355.
16. Lyama, T., Wilson, D.M., 3rd. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair (Amst)*; 2013; 12, 620–636.
17. Foster, M., Mullenders, L.H., Transcription-coupled nucleotide excision repair in mammalian cells: molecular mechanisms and biological effects. *Cell Res.* 2008; 18, 73–84.
18. Said, T.M., Paasch, U., Glander, H.J., Agarwal, A. Role of caspases in male infertility. *Hum. Reprod. Update*; 2004; 10, 39–51.
19. Gordon, F.K.E., Lamb, D.J. DNA repair genes and genomic instability in severe male factor infertility. In: Carrell, D.T. (Ed.), *The Genetics of Male Infertility*. Humana Press. 2006
20. Mukherjee, S., Ridgeway, A.D., Lamb, D.J. DNA mismatch repair and infertility. *Curr. Opin. Urol.* 2010; 20, 525–532.