

El comité editorial encargará al especialista la realización de una publicación original sobre un tema determinado. La revisión tiene como finalidad examinar la bibliografía publicada y situarla en cierta perspectiva. El artículo sintetizará los resultados y conclusiones de las publicaciones sobre el tópico encargado. Mantendrá el siguiente ordenamiento: título de la revisión, autor/es (apellido y nombre, lugar de trabajo, dirección de correo electrónico del contacto), resumen (en castellano y en inglés) y palabras claves.

Las citas bibliográficas deben presentar la estructura detallada previamente en trabajos originales, y numeradas según aparición en el texto. Las tablas, cuadros y figuras deberán llevar el epígrafe correspondiente y deberán ir adecuadamente referenciados en el texto; si es necesario, el autor especificará en qué parte del texto deben ir intercalados. En todos los casos el envío de trabajos, comentarios y publicaciones deberá hacerse por correo electrónico a la dirección de la secretaria de SAMeR: info@samer.org.ar

Conceptos actuales de genética e infertilidad masculina. Enfoque práctico para el médico reproductólogo

Gastón Rey Valzacchi

Procrearte, Red de Medicina Reproductiva y Molecular.

Sección Andrología y Reproducción, Servicio de Urología, Hospital Italiano de Buenos Aires.

Reproducción 2013;28:127-136

1- Introducción

Si bien con el conocimiento actual se considera que menos de un 5% de los casos de infertilidad masculina son de origen genético,¹ muy probablemente este número debería ser mayor teniendo en cuenta el importante número de casos de infertilidad de causa desconocida y la gran complejidad en la formación de un espermatozoide fértil que involucra múltiples procesos con un elevado número de genes participantes.

El desarrollo de las técnicas de reproducción asistida, especialmente la inyección espermática intracitoplasmática (ICSI), ha permitido la reproducción de hombres con severas alteraciones espermáticas, estando justamente dentro de este grupo de hombres aquellos con patología genética. Comúnmente cuando el médico piensa en patología genética suele asociarlo con serias alteraciones fenotípicas; sin embargo, los pacientes que consultan por infertilidad y que pueden tener una causa genética, posiblemente tengan como única manifestación fenotípica los cambios en la función testicular y el espermograma.

La importancia del diagnóstico genético radica no solo en poder efectuar un diagnóstico etiológico de la afección sino especialmente en poder evaluar los riesgos de transmisión y de alteraciones

genéticas en la descendencia.

Posiblemente la mayoría de las alteraciones genéticas que afectan la fertilidad serán causa de imposibilidad de reproducción natural y; por lo tanto, al no poder reproducirse estos individuos, se lograría la eliminación de estas afecciones de la naturaleza (mecanismo de selección natural). Sin embargo, el médico está participando activamente para facilitar la reproducción en estos pacientes, por lo que debe estar lo suficientemente informado para saber cómo estudiarlos y asesorarlos.

En este capítulo se describirán conceptos generales de genética y un enfoque eminentemente práctico orientado al manejo del paciente de aquellas patologías que en la actualidad pueden y deben ser estudiadas.

2- Estudios genéticos de laboratorio

Las pruebas genéticas se pueden dividir conceptualmente en técnicas citogenéticas o moleculares.

Cariotipo en sangre periférica con técnica de bandeos

Esta técnica citogenética permite evaluar el número y la estructura de los cromosomas. Para ello se interrumpe el ciclo mitótico de las células durante la metafase y se tiñen los cromosomas para revelar los patrones típicos de las bandas. Luego se fotografían las tinciones de los cromosomas y se

Correspondencia: Gastón Rey Valzacchi
E-mail: gaston.rey@hospitalitaliano.org.ar

agrupan los cromosomas en parejas, y se estudian para detectar anomalías en los mismos.

Practica clínica: El cariotipo permite evaluar alteraciones cromosómicas como aneuploidías, translocaciones, deleciones, etc.

Técnicas moleculares

a- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):

Esta técnica ha revolucionado el estudio de la genética y ha permitido estudiar directamente los defectos genéticos del ADN, ya que logra amplificar hasta mil millones de veces las copias únicas de los genes que contiene una célula pudiéndola estudiar con muy pocas células y con gran rapidez. Por ello se convirtió en la técnica preferible para detectar o diagnosticar los defectos de un gen.

Estas técnicas permiten evaluar alteraciones génicas como las microdeleciones del brazo largo del cromosoma Y, o mutaciones del gen de la enfermedad fibroquística.

Actualmente se están desarrollando las técnicas de micromatrices de ADN (conocidas como *microarrays*) que permiten el examen simultáneo de la actividad de miles de genes en paralelo con técnica de PCR. Estas técnicas tendrán utilidad cuando estén identificados muchos genes relacionados con infertilidad masculina.

b- Hibridización fluorescente in situ (FISH)

Esta técnica utiliza sondas fluorescente que se unen a segmentos específicos de ADN permitiendo estudiar genes específicos o cromosomas enteros, según el tamaño de la sonda.

Esta técnica es útil, por ejemplo, para la evaluación de la constitución cromosómica de los espermatozoides.

3- Alteraciones cromosómicas

3.1- Síndrome de Klinefelter (SK)

El síndrome de Klinefelter es la causa genética más frecuente de infertilidad masculina. Fue descrito hace muchos años caracterizado por azoospermia, testículos duros y pequeños, ginecomastia y hábito eunucoide. Sin embargo, en la actualidad se sabe que el fenotipo puede ser ampliamente variable y que muchas veces las únicas alteraciones son las espermáticas.

El SK se presenta en 1 de cada 600 recién nacidos y en el 10% de los pacientes azoospermicos. Se caracteriza genéticamente por la presencia de uno o más cromosomas X (el 80% son 47XXY y el 20% aneuploidías de más de un X o mosaicismos).²

Se supone que aproximadamente en la mitad de los casos el origen de la alteración es paterno, existiendo pruebas actuales que muestran una relación con la edad avanzada del padre.³

3.1.1 Aspectos clínicos importantes del SK

Si bien en la literatura se describió algún caso de SK con paternidad natural, era claro que el SK era causa de infertilidad intratable.

En la actualidad se conoce que en más de un 50% de los casos de SK puros (47 XXY) es posible encontrar algunos focos de espermatogénesis, pudiendo lograrse embarazos por medio de la técnica de ICSI.⁴⁻⁶

Lo interesante es que si bien en estos pacientes con SK y presencia de espermatogénesis existe un ligero incremento en el porcentaje de espermatozoides con aneuploidía, el mismo no es tanto como uno esperaría si los espermatozoides se originarían de una célula aneuploide (supuestamente una espermatogonia 47 XXY).⁷ Esto hizo pensar que posiblemente las células que originan los espermatozoides sean euploides, ya sea por ser una población mosaica o por pérdida del cromosoma X extra. En un estudio reciente pudimos demostrar que en pacientes con SK con focos de espermatogénesis las espermatogonias y los espermatozoides primarios tienen un solo cromosoma X, mientras que las células de Sertoli adyacentes a éstos presentan un cromosoma X extra.⁸ En base a esto y a otros datos experimentales como el estudio de modelos de ratones 41 XXY,^{9,10} muy probablemente en humanos el mecanismo por el cual se pueda llevar a cabo espermatogénesis en hombres con un cromosoma X excedente sea porque una espermatogonia (47 XXY) ha perdido su cromosoma X de más, restableciendo su categoría de euploide. Por esto es que el ligero incremento en las aneuploidías espermáticas en estos hombres estaría asociado a un fenómeno particular de este síndrome (posible disfunción de célula de Sertoli), que origina un ambiente testicular adverso que interfiere con los mecanismos de segregación cromosómica más que a la presencia de tres cromosomas sexuales en las células germinales.¹¹

*Un alto porcentaje de los embriones constituidos con espermatozoides de SK, estudiados para PGD son normales, y no hay incremento de alteraciones en los niños nacidos, por lo que la presencia de un SK no contraindica la búsqueda de espermatozoides testiculares ni la búsqueda de embarazo.*¹²

3.2- Translocaciones

Las translocaciones incluyen el intercambio de material entre dos cromosomas. Estos reordenamientos suelen producir alteraciones fenotípicas si producen ganancia o pérdida de genes (translocaciones desbalanceadas). En general en fertilidad se ven las denominadas “translocaciones balanceadas” que al no modificar la cantidad total de material genético activo no altera el fenotipo, pudiendo producir solo efectos reproductivos.

Existen dos clases de translocaciones: las recíprocas y las robertsonianas. En las recíprocas el intercambio de material genético no involucra los centrómeros, y por lo tanto, sigue habiendo 46 cromosomas, pero hay dos pares de cromosomas homólogos que son distintos en cuanto a su morfología y su composición. En las robertsonianas involucra el intercambio entre cromosomas acrocéntricos (números 13, 14, 15, 21 y 22) fusionándose por su centrómero, de forma tal que quedan 45 cromosomas, pero como no hay ningún brazo corto acrocéntrico que sea esencial, estos pacientes siguen siendo equilibrados y fenotípicamente normales.

Estos reordenamientos tienen un impacto potencialmente negativo en la meiosis masculina, conduciendo a una mala segregación cromosómica, a la detención de la meiosis y a la muerte celular en el estado de paquitene. El mecanismo por el cual se detiene la meiosis tiene que ver con la asociación del multivalente (complejo que involucra el apareamiento de los cromosomas translocados) con el cuerpo XY durante la profase meiótica, llevando a un daño del espermatozoides en paquitene con detención de la meiosis y apoptosis de los espermatozoides.¹³

Sin embargo, en otros pacientes la espermatogénesis puede mantenerse casi normal y el cuadro se detecta sólo por abortos repetidos de la pareja. Esta variabilidad tendría que ver con el grado de asociación del multivalente con el cuerpo XY, que afectaría en grado diverso la meiosis.^{14,15} En el caso

que los espermatozoides escapen de la detención, progresará la meiosis, pero la formación del multivalente (apareamiento de más de dos cromosomas) impide que la disyunción se cumpla siguiendo un orden geométrico, dando como resultado gametos desequilibrados.

3.2.1- Aspectos clínicos importantes de las translocaciones

En estos paciente es común encontrar un cuadro de azoospermia u oligozoospermia severa, con volúmenes testiculares casi normales y niveles normales de FSH. Esto puede hacer pensar en un posible cuadro obstructivo, sin embargo, al efectuar una biopsia testicular se encuentra un cuadro de detención de la espermatogénesis con buen número de espermatogonias y espermatozoides, que da los niveles normales de FSH y el buen volumen testicular.

*En los casos de pacientes azoospermicos con translocaciones, la posibilidad de encontrar espermatozoides en el testículo para hacer una ICSI es extremadamente baja y las expectativas son muy pobres.*¹⁶

En los pacientes oligozoospermicos o con espermatogénesis poco afectada, se debe plantear una técnica de ICSI con diagnóstico genético preimplantacional (PGD). Se debe tener en cuenta que las posibilidades reproductivas en estos pacientes dependerán mucho del estado reproductivo de la pareja, ya que estadísticamente una media de solo el 10% de los embriones que forman estos individuos son genéticamente normales y, por lo tanto, dependerán las posibilidades de que la mujer tenga una buena respuesta a la estimulación ovárica para que pueda tener un buen número de ovocitos y como consecuencia tengan reales posibilidades de lograr un embrión normal.¹⁷

3.3- Varón XX

Este cuadro se denomina “reversión sexual masculino y aparece en la proporción de 1 en 20.000 nacimientos, caracterizándose por una apariencia masculina, orientación sexual normal de varón, testículos pequeños con azoospermia y un cariotipo aparente de una mujer normal, debiéndose a que erróneamente en la constitución cromosómica hay incorporado algún gen de la cascada de la diferenciación testicular.

Casi el 70% de estos cuadros presentan el gen SRY que es el que dispara la cascada de eventos hacia la diferenciación masculina.¹⁸ Este gen está ubicado normalmente en la porción distal del brazo corto del cromosoma Y adyacente a su región pseudoautosómica. Esta última región es la que normalmente se aparea con la región homónima del cromosoma X durante la meiosis de las células germinales masculinas (espermatoцитos), efectuando intercambio de material genético (*crossing over*). Si este intercambio se extiende un poco más, puede involucrar al gen SRY, de manera tal que queda incorporado en un cromosoma X. Si esto sucede, quedará constituido un espermatozoide que transporta un cromosoma X con un gen SRY incorporado. Si este espermatozoide fecunda, se constituirá un embrión 46XX con un gen SRY que disparará durante el desarrollo embrionario la diferenciación testicular y consecuentemente el testículo producirá testosterona que inducirá la diferenciación de los genitales externos. Sin embargo, este individuo que tendrá un desarrollo masculino normal no podrá tener espermatozoides, ya que los genes relacionados con este proceso están principalmente en el brazo largo del cromosoma Y, los cuales no están presentes en este cuadro.

Existen cuadros de reversión sexual sin SRY, suponiéndose que se debe a la presencia o mutación de otros genes que intervienen en la cascada de diferenciación testicular. A veces, estos últimos cuadros se asocian a alteraciones de la diferenciación genital como hipospadía, criptorquidia, etc.

El cuadro de reversión sexual tiene coherencia entre la gónada y el fenotipo (masculinos ambos) a diferencia del hermafroditismo en el cual coexisten tejido ovárico y testicular, y los pseudohermafroditismos en los cuales hay un único y definido tipo de gónada, pero algunos elementos del fenotipo no coinciden con el tipo gonadal del paciente.

3.3.1- Aspectos clínicos importantes del varón XX

Desde un punto de vista práctico es importante tener en cuenta que en estos pacientes al no estar presente el brazo largo del cromosoma Y (donde se ubican genes relacionados con la espermatogénesis) la posibilidad de encontrar espermatozoides es nula y, por lo tanto, no tiene sentido plantearles un TESE.

Respecto a la explicación al paciente, es importante que el genetista que realiza el diagnóstico y el asesoramiento y el médico que sigue al paciente tengan un discurso coherente entre ellos, tratando de no poner en duda la identidad sexual del paciente y explicándole básicamente que por un error genético una porción del cromosoma Y, responsable de la diferenciación en sentido masculino, se encuentra incorporado en otro cromosoma y que por esto todas las características son masculinas (presencia de testículos, conductos, próstata, genitales externos, virilización, conducta, etc), salvo la posibilidad de formar espermatozoides.

3.4- 47 XYY

Este cuadro que se manifiesta en 1/1.000 nacidos involucra la presencia de un cromosoma Y de más. En general son pacientes altos, de menor inteligencia, con comportamiento agresivo. En la gran mayoría de estos pacientes el cuadro seminal es normal y muy pocos espermatozoides tienen disomía de los cromosomas sexuales (YY;XX,XY), lo que se debería, en forma similar al SK, a que el cromosoma sexual adicional sería eliminado en la línea germinal.

3.4.1- Aspectos clínicos importantes del 47 XYY

Algunos individuos tienen una oligozoospermia severa o azoospermia. En estos pacientes se puede evidenciar que los espermatoцитos mantienen la presencia de los 3 cromosomas sexuales, en la mayoría de ellos llevando a una detención de la espermatogénesis y a un incremento de las aneuploidías espermáticas.¹⁹

Práctica clínica: En estos pacientes (47 XYY con oligozoospermia severa) es recomendable efectuar un FISH en espermatozoides, lo cual marcará la conveniencia de efectuar una técnica de ICSI con PGD.

4- Alteraciones génicas con posibilidad de diagnóstico en la actualidad

4.1- Microdelección del brazo largo del cromosoma Y

Si bien desde hace muchos años se relacionó al cromosoma Y con la formación de espermatozoides, recién en 1976 Tiepolo y Zufardi, utilizando

técnicas de citogenética, describieron en 6 hombres azoospermicos la delección de una porción del brazo largo del cromosoma Y (Yq11).²⁰ Debido a que el estudio del cromosoma Y de los padres de cuatro de ellos era normal, infirieron que estas delecciones eran de novo y que el ADN de esa región del cromosoma Y debía llevar factores genéticos relacionados con la espermatogénesis. Esta región fue denominada "AZF" (factor de la azoospermia, en inglés: *azoospermia factor*) y recién con el advenimiento de las técnicas de biología molecular pudo ser profundizado su estudio.

Vogt fue quien realizó uno de los estudios que incluyó mayor número de hombres, estudiando 370 pacientes infértiles y sugirió la existencia de 3 regiones dentro de AZF.^{21,22} Esas regiones las llamó "AZFa" (proximal), "AZFb" (central) y "AZFc" (distal). Sus estudios correlacionaban las delecciones de cada una de estas regiones con la histología testicular y sugirió que la expresión de genes de AZFa se requiere para la proliferación de las células germinales, genes de AZFb para la progresión meiótica, y los genes de AZFc serían activos durante la meiosis tardía o en las espermátidas, lo que originaba que las delecciones en AZFa ocasionen un cuadro de Sertoli solo, las de AZFb una detención en espermatocono, y las de AZFc una detención en espermátida. Si bien esta nomenclatura de regiones se mantuvo, la correlación con la histología testicular no se pudo comprobar.

Si bien múltiples genes mapeados en AZF han sido propuestos como posiblemente relacionados con la regulación de la espermatogénesis, solamente algunos de ellos (USP9Y y DBY en AZFa, RBM en AZFb y DAZ en AZFc) son considerados actualmente como intervinientes en este proceso.²³

La región AZF se caracteriza por tener secuencias palindrómicas.²⁴ Las mismas son secuencias de bases especulares, es decir, que desde un punto del cromosoma la secuencia de bases es idéntica hacia un lado y el otro. Aparentemente esta estructura especial favorecería el mecanismo de delección de esta región.²⁵

4.1.1- Aspectos clínicos importantes de AZF

Actualmente se considera que aproximadamente el 10% de los pacientes azoospermicos no obstructivos y el 5% de los oligozoospermicos

severos presentan una microdelección de la región AZF, debiendo ser ésta la población con indicación de estudio.²⁶

En los pacientes azoospermicos si la delección compromete a la región AZFa o AZFb, las posibilidades de recuperar espermatozoides en el testículo son nulas.²⁷ Esto es importante porque el estudio puede orientar previo a un TESE en pacientes que ingresarán a un ICSI, pudiendo evitar el procedimiento, mientras que en los pacientes con delección de AZFc, aproximadamente el 50% tiene espermatozoides testiculares.²⁸

Desde el momento en que algunos hombres con microdelecciones del Y tienen espermatozoides, tendrán la posibilidad de reproducirse, difícilmente por vía natural o asistidos por las técnicas de reproducción asistida (ICSI).

Existen algunos trabajos que comunican la paternidad de hombres con delección del cromosoma Y logrados por ICSI, ya sea utilizando espermatozoides eyaculados o recuperados del testículo.²⁹ En todos los casos donde los hijos son varones se detecta la misma delección que tiene el padre, es decir, tiene una transmisión del 100% para los hijos varones.³⁰

Siempre se plantea si estos pacientes deben acceder a un procedimiento de reproducción asistida, ya que se está participando en la transmisión de una mutación que normalmente se perdería. Lo cierto es que el riesgo de incrementar significativamente la población de hombres estériles a través del ICSI de estos pacientes parece poco probable, teniendo en cuenta el porcentaje de hombres estériles (10%), el porcentaje de estos hombres que tienen microdelecciones del Y (5%), el porcentaje de éstos que tienen espermatozoides (aproximadamente 50%), el porcentaje de hombres que tienen posibilidad de acceder a un ICSI (generalmente bajas por razones sociales, económicas y personales), y el porcentaje de ICSI que llega a embarazo a término (30%). Si uno realiza esta cuenta, seguramente se daría cuenta de que la cantidad de niños nacidos en el mundo con microdelección del Y será ínfima y poco posible que incremente la esterilidad en la población.

Asimismo, si bien éstas han de ser mutaciones que tenderían a perderse, ya que son productoras de esterilidad, ha de existir un mecanismo de mantenimiento de estas delecciones en la población que hace que se mantengan generación tras generación.

Un trabajo mostró que al interrogar a un grupo de parejas portadoras de microdeleciones del Y sobre si deseaban hacer un ICSI explicándoles el riesgo de transmisión, el 85% de ellas aceptó efectuar el procedimiento.

4.2- Genes relacionados con la formación de la vía espermática (fibrosis quística)

La agenesia bilateral de la vía espermática (ABVE) es un desorden raro que compromete al 2% de los hombres estériles.³¹ Se ha comprobado una asociación entre este último cuadro y la fibrosis quística.³²

La fibrosis quística es uno de los desórdenes genéticos más frecuentes en la población,³³ transmitiéndose en forma autosómica recesiva, y afectando a 1 de cada 2.000 nacidos vivos y siendo transportada la mutación en 1 de cada 20 individuos. La fibrosis quística se debe a una mutación en el gen que codifica una proteína denominada regulador transmembranoso de la fibrosis quística (RTFQ: CFTR en inglés), que es un canal de cloro de la membrana plasmática. El gen de esta proteína se localiza en el cromosoma 7 (7q21), habiéndose descrito más de 500 mutaciones de este gen a lo largo de sus 27 exones, siendo la mutación más frecuente en la fibrosis quística la denominada delta F508 (70% de los pacientes).

Debido a que la ABVE se presenta en la mayoría de los hombres con fibrosis quística, se sugirió que la ABVE como única manifestación sería una forma incompleta de la fibrosis quística, sin los síntomas pulmonares, pancreáticos o sudoríparos. Por lo tanto, se considera actualmente que la ABVE es la forma genital de la fibrosis quística.³⁴

Al existir más de 500 mutaciones del gen y la posibilidad de alteraciones en las regiones no codificantes, es posible explicar que la combinación de distintas mutaciones en ambas copias del gen del CFTR dará los distintos cuadros de la fibrosis quística, desde formas leves como puede ser la ABVE en el caso que se combinen dos mutaciones moderadas o una mutación severa (por ejemplo, $\Delta F508$) con la variante 5T, hasta los cuadros severos de fibrosis quística con insuficiencia pancreática en el caso que se combinen dos mutaciones severas, pasando por los cuadros de fibrosis quísticas con suficiencia pancreática en que se combinan una mutación severa con una moderada.

4.2.1- Aspectos clínicos importantes en la ABVE

Estas consideraciones toman hoy relevancia desde el momento en que los hombres con ABVE pueden reproducirse, ya que sus testículos fabrican espermatozoides.³⁵ Las técnicas de inyección espermática intracitoplasmática (ICSI) ha permitido la reproducción en estos hombres utilizando espermatozoides recuperados de sus testículo o epidídimos.³⁶

Práctica clínica: Debido a esta posibilidad de reproducción de estos pacientes es importante realizar la evaluación del estado del gen de CFTR en ambos miembros de la pareja, lo que permitirá estimar el riesgo genético de la descendencia.

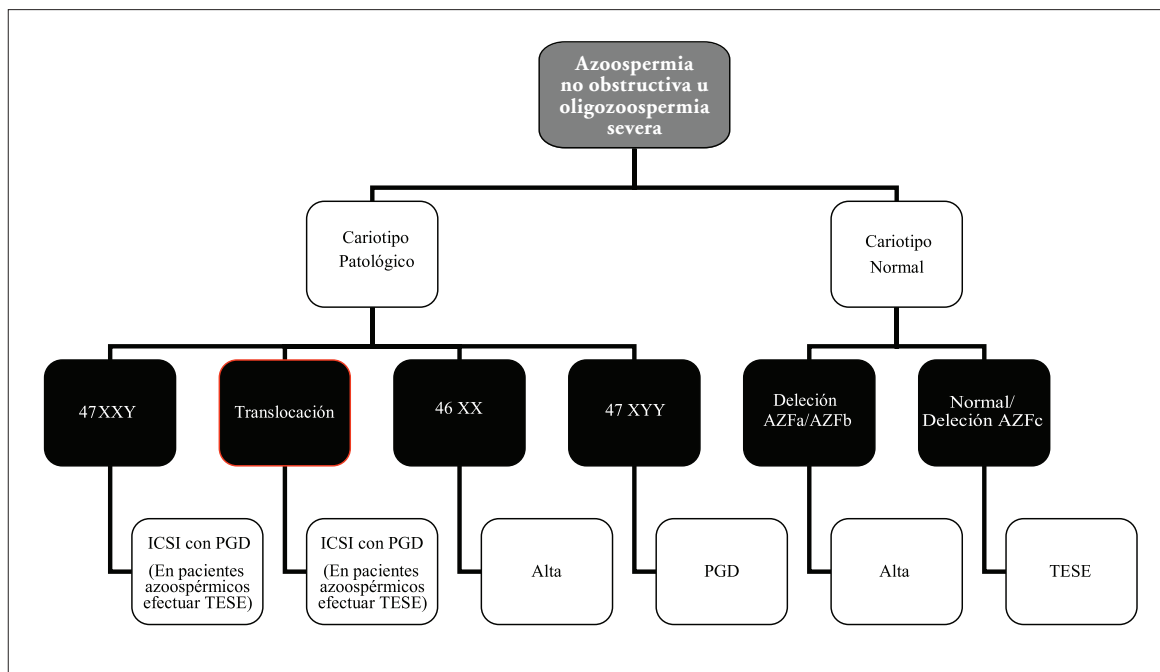
Los hombres con mutación del gen en estado homocigoto o en estado heterocigoto compuesto transmitirán la mutación a la totalidad de su descendencia, mientras que en el caso de hombres heterocigotos simples la transmisión se da al 50% de la descendencia. Teniendo en cuenta que la fibrosis quística se transmite en forma autosómica recesiva, si la mujer es portadora de una mutación del gen de CFTR, según las leyes de Mendel, los hijos estarán afectados en el 50% de los casos cuando el hombre es homocigoto o heterocigoto compuesto, y en el 25% de los casos cuando el hombre es heterocigoto. En los pacientes en quienes ambos miembros presentan alguna mutación se puede y se debe realizar un diagnóstico genético preimplantacional para las alteraciones identificadas.

5- Metodología de estudio genético del hombre infértil (Figura 1)

En la actualidad la evaluación genética se concentra en el hombre azoospermico u oligozoospermico, que son quienes tienen más probabilidad de presentar una alteración.

Tanto en el paciente con azoospermia no obstructiva u oligozoospermia severa se debe solicitar un cariotipo en sangre periférica. Las alteraciones más frecuentes que se podrán identificar son el SK, las translocaciones y el varón XX. En el caso del SK con azoospermia se debe plantear efectuar una biopsia testicular con recuperación de espermatozoides microquirúrgica (microTESE), ya que en aproximadamente el 50% de los casos es factible encontrar espermatozoides para un ICSI. Si

Figura 1. Algoritmo de diagnóstico genético en pacientes infértiles azoospermicos u oligozoospermicos severos. ICSI: inyección espermática intracitoplasmática. PGD: Diagnóstico genético de preimplantación. TESE: extracción de espermatozoides testiculares. Alta: se refiere a la falta de posibilidades terapéuticas actuales con este cuadro.



bien estos espermatozoides surgen de células con constitución cromosómica normal, existe un ligero incremento del porcentaje de aneuploidías en los espermatozoides de estos pacientes (aparentemente por una alteración del medio ambiente generado por una disfunción de la célula de Sertoli), por lo que sería conveniente indicar asociado al ICSI un PGD. En el caso de las translocaciones en pacientes azoospermicos, si bien se indica una recuperación de espermatozoides testiculares, la posibilidad de que sea exitosa es muy baja, ya que existe un bloqueo de la espermatogénesis. En el caso de oligozoospermicos con una translocación se debe efectuar un ICSI con PGD previo asesoramiento genético. Si el cariotipo da un varón XX, no se justifica realizar un microTESE. En el caso de un paciente 47 XYY con un cuadro de oligozoospermia severa, se debe plantear un ICSI con PGD.

Si en los pacientes azoospermicos no obstructivos u oligozoospermicos el cariotipo es normal, se indicará un estudio de la región AZF, la cual si está delecionada en las regiones AZFa y b, se considera que las posibilidades de encontrar espermatozoides en el testículo son prácticamente nulas, por lo que no se justificaría realizar el microTESE.

Si el estudio de esta región da normal o una deleción en AZFc, en los pacientes azoospermicos se debe indicar la búsqueda de espermatozoides testiculares, ya que las posibilidades de éxito están por arriba del 50% de los casos. En los pacientes con deleción de AZFc, ya sean azoospermicos en quienes se encuentran espermatozoides testiculares o en oligozoospermicos, se debe asesorar sobre el riesgo de transmitir esta misma deleción a su descendencia masculina.

En los pacientes azoospermicos obstructivos con ABVE o de causa desconocida (generalmente congénita) se debe solicitar a ambos miembros de la pareja un estudio del gen CFTR (fibrosis quística). La presencia de mutación en ambos miembros incrementa significativamente el riesgo de enfermedad fibroquística en la descendencia por lo que se deberá efectuar un asesoramiento con eventual PGD.

6- Riesgo genético en los procedimientos de reproducción asistida

Cuando se revisa la literatura en relación a los riesgos de los embarazos y de niños nacidos

posterior a un procedimiento de ICSI por factor masculino, los resultados suelen ser bastante controvertidos.^{37,38} En general se observa un ligero incremento en la tasa de abortos y de malformaciones congénitas. Sin embargo, es necesario considerar que en un procedimiento de ICSI hay otras muchas variables que pueden influir en estos resultados, como la edad de la mujer, la presencia de embarazo múltiple y, por sobre todas las cosas, se debe entender que está facilitándose un proceso que naturalmente no se llevaría a cabo. Sin lugar a dudas todo esto podrá favorecer los errores genéticos, sin embargo, desde un punto de vista clínico en la práctica diaria este incremento no es lo suficientemente significativo como para contraindicar la realización del tratamiento.

Actualmente se sospecha que el uso de gametas alteradas puede llevar a un incremento de desórdenes del *imprinting*.^{39,40} Este fenómeno consiste en la metilación de bases de citosina del ADN que contribuye a silenciar la expresión de un gen por lo que éste se mantendrá inactivo.⁴¹ Este *imprinting* se lleva a cabo durante la gametogénesis y se han descrito más de 50 genes que realizan este fenómeno. Estos genes que efectúan *imprinting* juegan un rol crucial en el desarrollo embrionario (crecimiento fetal, función placentaria y diferenciación celular) y alteraciones en el *imprinting* resultan en desórdenes, incluyendo defectos de nacimiento, desórdenes de conducta y cáncer.⁴² El estudio del *imprinting* de 7 genes en 97 hombres infértiles demostró una alteración en el *imprinting* en el 35% de los hombres.⁴³

Se han descrito algunos síndromes (Beckwith-Wiedemann, Angelman, Prader Willy) que involucran alteraciones de *imprinting* genómico y algunos reportes recientes muestran una mayor incidencia de estos cuadros en chicos nacidos por reproducción asistida.⁴⁴ Asimismo, en chicos nacidos por ICSI se describe un incremento de defectos mayores, retardo de crecimiento intrauterino y nacidos de bajo y muy bajo peso.⁴⁵

Si bien en la actualidad no se puede ser concluyente sobre los riesgos de la reproducción asistida en el *imprinting*, parecería haber un incremento de algunas alteraciones y se requieren estudios a largo plazo, especialmente sobre crecimiento, desarrollo neurológico y tumores.

Otro tema de controversia actual es el posible riesgo genético en la descendencia en relación a la

edad paterna, dado que se ha descrito un incremento de aneuploidías en los cromosomas sexuales en los espermatozoides de hombres de edad avanzada.⁴⁶ Sin embargo, esto no se asocia con un mayor incremento de aneuploidías en los hijos. Sí existe una clara asociación entre la edad paterna y la aparición en la descendencia de desórdenes muy poco frecuentes como la acondroplasia, el síndrome de Apert, el síndrome de Marfan y la aniridia, entre otros.⁴⁷ Estos defectos son de origen génico autosómico y se sospecha que se asocian con la edad por la posibilidad que a mayor número de divisiones celulares que efectúan las células germinales, mayor será la probabilidad de que en éstas se produzcan algunas fallas llevando a una alteración en alguna parte del ADN.

Como se puede observar, existen todavía muchas dudas; sin embargo, las sospechas deben orientar hacia un estudio exhaustivo de la patología genética asociada a la infertilidad. Sin lugar a dudas, el estudio y conocimiento de las probables patologías genéticas asociadas a la infertilidad que permiten efectuar un correcto asesoramiento genético y el desarrollo de tecnologías como el PGD que permiten un diagnóstico temprano de alteraciones embrionarias favorecen la disminución en los riesgos potenciales asociados a esta población de pacientes y a este procedimiento.

7- Conclusiones

Los conceptos principales que debe incorporar el médico que atiende pacientes con problemas de fertilidad son:

- Las alteraciones genéticas que afectan la fertilidad tienen en el hombre expresión casi exclusiva a nivel espermático, por lo que no deben esperarse severas alteraciones fenotípicas corporales para solicitar una evaluación genética.
- Los estudios genéticos tienen indicación en la actualidad principalmente en hombres con severas alteraciones seminales (azoospermia, oligozoospermia severa).
- El cariotipo permite evaluar alteraciones cromosómicas.
- Las técnicas de biología molecular (por ejemplo, PCR) permiten evaluar patología submicroscópica que no puede detectarse con el cariotipo.
- El síndrome de Klinefelter es la patología gené-

tica más frecuente en infertilidad masculina. Actualmente se sabe que aproximadamente el 50% de estos pacientes puede tener espermatozoides en sus testículos pudiendo lograr embarazos con la asistencia de la técnica de ICSI.

- Los pacientes con translocaciones se benefician con el diagnóstico genético preimplantacional. Dado que el porcentaje de embriones normales que forman es bajo, es importante que la mujer tenga una buena reserva folicular.
- Los pacientes varones XX no tienen posibilidad de tener espermatozoides.
- La región AZF que alberga genes relacionados con la espermatogénesis se ubica en el brazo largo del cromosoma Y. La delección de esta región puede producir fenotipos espermáticos variables y la misma es transmisible al 100% de los hijos varones.
- La agenesia de conductos deferentes bilateral es una forma menor de enfermedad fibroquística. Pueden reproducirse con espermatozoides recuperados del epidídimo o testículo, debiendo estudiarse la pareja para ver la posibilidad de portación de una mutación del gen CFTR.
- Teniendo en cuenta que existen poderosas herramientas para el logro de la fertilidad de hombres con severas alteraciones espermáticas, hoy de etiología desconocida, es importante que se perfeccione el diagnóstico de la esterilidad de origen genético, no sólo para explicar y entender el problema, sino también para informar sobre posibles riesgos en la descendencia.

Referencias

1. Bhasin S. Approach to the Infertile Man. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1995-2004.
2. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004;364:273-283.
3. Thomas S, Hassold T.J. Aberrant recombination and the origin of Klinefelter syndrome. *Hum Reprod Update* 2003;9:309-317.
4. Friedler S, Raziell A, Strassburger D, Schachter M, Bern O, Ron-El R. Outcome of ICSI using fresh and cryopreserved thawed testicular spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2001;16:2616-262.
5. Tournaye H, Camus M, Vandervorst M, Nagy Z, Joris H, Van Steirteghem A, Devroey P. Surgical sperm retrieval for intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl* 1997;20:69-73.
6. Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL, Goldstein M, Rosenwaks Z, Schlegel P. Success of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6263-6267.
7. Estop AM, Munné S, Ciepły KM, Vandermark KK, Lamb A, Fisch H. Meiotic products of a Klinefelter 47 XXY male as determined by sperm fluorescence in-situ hybridization analysis. *Hum Reprod* 1998;13:124-127.
8. Sciurano RB, Luna Hisano C, Rahn MI, Brugo Olmedo S, Rey Valzacchi G, Coco R, Solari A. Focal spermatogenesis originated in euploid germ cells in classical Klinefelter patients. *Human Reprod* 2009;24:2353-2360.
9. Mroz K, Carrel L y Hunt P. Germ cell development in the XXY mouse: evidence that X chromosome reactivation is independent of sexual differentiation. *Dev Biol* 1999;207:229-238.
10. Lue Y, Nagesh Rao P, Sinha Hikim A, Im M, Salameh WA, Yen PH, Wang C, Swerdloff RS. XXY male mice: an experimental model for Klinefelter syndrome. *Endocrinology* 2001;142:1461-1470.
11. Mroz K, Hassold TJ, Hunt PA. Meiotic aneuploidy in the XXY mouse: evidence that a compromised testicular environment increases the incidence of meiotic errors. *Hum Reprod* 1999;14:1151-1156.
12. Staessen C, Tournaye H, Van Assche E, Michiels A, Van Landuyt L, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. PGD in 47 XXY Klinefelter's syndrome patients. *Hum Reprod Update* 2003;9:319-330.
13. Gabriel-Robez O, Rumpel Y. The meiotic pairing behaviour in human spermatocytes carrier of chromosome anomalies and their repercussions on reproductive fitness. II. Robertsonian and reciprocal translocations. A European collaborative study. *Ann Genet* 1996;39:17-25.
14. Johannisson R, Löhrs U, Wolff HH and Schwinger E. Two different XY-quadrivalent associations and impairment of fertility in men. *Cytogenet Cell Genet* 1987;45:222-230.
15. Sciurano RB, Rahn MI, Rey Valzacchi, Solari AJ. The asynaptic chromatin in spermatocytes of translocation carriers contains the histone variant \square -H2AX and associates with the XY body. *Hum Reprod* 2007;22:142-150.
16. Hung AJ, King P, Schlegel PN. Uniform testicular maturation arrest: a unique subset of men with nonobstructive azoospermia. *J Urol* 2007;178:608-612.
17. Simpson JL, Bischoff F. Genetic counseling in translocations. *Urol Clin North Am* 2002;29:793-807.
18. Van der Auwera B, Van Roy N, De Paepe A, Hawkins JR, Liebaers I, Castedo S, et al. Molecular cytogenetic analysis of XX male using Y-specific DNA sequences, including SRY. *Hum Genet* 1992; 89:23-28.
19. Solari AJ, Rey Valzacchi G. The prevalence of a YY synaptonemal complex over XY synapsis in an XYY man with exclusive XYY spermatocytes. *Chromosome Res* 1997;5:467-474.

20. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34:119-124.
21. Vogt P, Chandley AC, Hargreave T, Keil R, Ma K, Sharkey A. Microdeletions in interval 6 of the Y chromosome of males with idiopathic sterility point to disruption of AZF, a human spermatogenesis gene. *Hum Genet* 1992;89:491-496.
22. Vogt P, Edelmann A, Habermann B, Hanagariu O, Hirshmann P, Keil R, et al. Y chromosome and male fertility genes. En: Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Tounger JB, editors. *Fertility and Reproductive Medicine*. Amsterdam Elsevier ed, 1998.
23. O'Flynn O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A: The genetic causes of male factor infertility: A review. *Fert Steril* 2010;93:1-12.
24. Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, Brown LG, Minx PJ, Cordum HS, et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet* 2001;29:279-286.
25. Repping S, Skaletsky H, Lange J, Silber S, Van Der Veen F, Oates RD, et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet* 2002;71:906-922.
26. Kostiner DR, Turek PJ, Reijo RA. Male infertility: analysis of the markers and genes on the human Y chromosome. *Hum Reprod* 1998;13:3032-3038.
27. Brandell RA, Mielnik A, Liotta D, Ye Z, Veeck LL, Palermo GD, et al: AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: preliminary report of a prognostic genetic test. *Hum Reprod* 1998;10:2812-2815.
28. Mulhall JP, Reijo R, Alagappan R, Brown L, Page D, Carson R, et al. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997;12:503-508.
29. Jiang MC, Lien YR, Chen SU, Ko TM, Ho HN, Yang YS. Transmission of the novo mutations of deleted in azoospermia genes from a severely oligozoospermic male to a son via intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998;71:1029-1032.
30. Silber SJ, Repping S. Transmission of male infertility to future generations: lessons from the Y chromosome. *Hum Reprod Update* 2002;8:217-229.
31. Dubin L, and Amelar RD. Etiologic factors in 1,294 consecutive cases of male infertility. *Fertil Steril* 1971;22:469-474.
32. Holsclaw DS, Lober B, Jockin H and Schwachman H. Genital abnormalities in male patients with cystic fibrosis. *J Urol* 1971;106:568-574.
33. Zielenski J and Tsui LC. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annu Rev Genet* 1995; 29:777-807.
34. Oates RD, Amos JA. The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J Androl* 1994;15:1-8.
35. Silber SJ, Ord T, Borrero C, Balmaceda J, Asch R. New treatment for infertility due to congenital absence of vas deferens. *Lancet* 1987;2:850-851.
36. Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, Godoy H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. *Hum Reprod* 1994;9:1705-1709.
37. Pinborg A, Loft A, Rasmussen S, Schmidt L, Langhoff-Roos J, Greisen G, Andersen AN. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 3438 IVF/ICSI and 10362 non-IVF/ICSI twins born between 1995 and 2000. *Hum Reprod* 2004; 19:435-441.
38. Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde MP, Cammus M, Devroey P, Van Steirteghem A. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod* 2002;17:671-694.
39. Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, Luharia A, Cooper W, Cole TR, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *J Med Genet* 2003;40:62-64.
40. Orstavik KH, Eiklid K, van der Hagen CB, Spetalen S, Kierulf K, Skjeldal O and Buiting K. Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic semen injection. *Am J Hum Genet* 2003;72:218-219.
41. Surani MA. Imprinting and the initiation of gene silencing in the germ line. *Cell* 1998;93:309-312.
42. Lucifero D, Chaillet JR and Trasler JM. Potential significance of genomic imprinting defects for reproduction and assisted reproductive technology. *Hum Reprod Update* 2004;10:3-18.
43. Kobayashi H, Sato A, Otsu E, Hiura H, Tomatsu C, Utsunomiya T, et al. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Hum Mol Genet* 2007;16:2542-2551.
44. Eamonn R. Maher. Imprinting and assisted reproductive technology. *Hum Mol Genet* 2005;14 Spec No 1:R133-138.
45. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G. and Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med* 2002;346:731-737.
46. Griffin DK, Abruzzo MA, Millie EA, Sheehan LA, Feingold E, Sherman SL and Hassold TJ. Non-disjunction in human sperm: evidence for an effect of increasing paternal age. *Hum Mol Genet* 1995; 4:2227-2232.
47. Kühnert B and Nieschlag E. Reproductive functions of the ageing male. *Hum Reprod Update* 2004;10:327-333.