

## CASUÍSTICA

### Microdeleciones del gen AZF: serie de casos y revisión de la literatura



A. Gallego\*, R. Rogel, S. Luján, B. Plaza, F. Delgado y F. Boronat

Servicio de Urología, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, España

#### PALABRAS CLAVE

Azoospermic factor;  
Microdelección Y;  
Azoospermia;  
Infertilidad primaria;  
Genética

#### KEYWORDS

Azoospermic factor;  
Y chromosome  
microdeletion;  
Azoospermia;  
Primary infertility;  
Genetics

#### Resumen

**Objetivo:** Aproximadamente un 10% de los pacientes con azoospermia no obstructiva y un 5% de pacientes con oligozoospermia severa presentan microdeleciones en las regiones *azoospermic factor* (AZF) del cromosoma Y. El objetivo principal de este estudio es analizar las características clínicas y patológicas de estos pacientes y compararlos con la literatura previa.

**Material y métodos:** Estudio retrospectivo de 11 pacientes con diagnóstico de azoospermia u oligozoospermia y presencia de microdeleciones AZFa, AZFb, AZFc o sus combinaciones.

**Resultados:** La microdelección en la región AZFc apareció en un 45% de pacientes, AZFa en el 33% y un 10% presentaron mutación en las 3 regiones analizadas (AZFa, b y c). El 91% de los pacientes con estas microdeleciones presentaron azoospermia con un volumen testicular disminuido en el 62,5%.

**Conclusión:** Las microdeleciones de la región AZF se asocian a azoospermia y una baja expectativa de recuperación de espermatozoides en la biopsia testicular, sin alterar significativamente la función hormonal.

© 2014 AEU. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

#### AZF gene microdeletions: Case series and literature review

#### Abstract

**Objective:** Approximately 10% of patients with non-obstructive azoospermia and 5% with non-obstructive severe oligozoospermia carry AZF region microdeletions (AZoospermic Factor) in the Y chromosome. The aim of this study is to analyze the clinical and pathological findings in this group of patients and compare them with the previous evidence.

**Material and methods:** Retrospective study of 11 patients with diagnosis of azoospermia or oligozoospermia and the presence of AZFa, AZFb, AZFc microdeletions or any combination of them.

**Results:** Microdeletions of AZFc region were found in 45% of cases, AZFa in 33% and a 10% showed a deletion of the three regions (a,b and c). 91% of them demonstrated azoospermia with low testicular volume in 62,5% cases.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [angel.gallego86@hotmail.com](mailto:angel.gallego86@hotmail.com) (A. Gallego).

**Conclusion:** Microdeletions of AZF regions are associated with azoospermia and a low expectation of sperm retrieval in testicular biopsy. On the other hand, they seem not related with significative modifications on the hormone profile.

© 2014 AEU. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introducción y objetivo

La microdeleción de la región AZF en el brazo largo del cromosoma Y (Yq11.23) es la segunda causa de infertilidad masculina de origen genético, precedida por el síndrome de Klinefelter<sup>1</sup>. Si bien su prevalencia en la población general es desconocida, aproximadamente un 10% de los pacientes con azoospermia no obstructiva y un 5% de pacientes con oligozoospermia severa la presentan. En determinadas publicaciones la cifra puede llegar al 18% en azoospermicos<sup>2</sup>.

En 1976 se describió por primera vez la deleción de determinadas regiones en el cromosoma Y en varones infértiles<sup>3</sup>. No fue hasta 1995 cuando tuvo lugar la caracterización definitiva de 3 regiones diferenciadas (denominadas a, b y c)<sup>4,5</sup>. En 1997 se describieron unidades de transcripción que tendrían una función crítica en la espermatogénesis, vinculando las regiones AZF al proceso de espermatogénesis<sup>6</sup>.

Clínicamente el denominador común de la deleción de cualquiera de estas 3 regiones o sus combinaciones es la infertilidad primaria con azoospermia u oligozoospermia severa (< 5 mill/mL) en ausencia de trastornos de la virilización. Las alteraciones más reportadas en la bibliografía son el descenso de tamaño testicular y la elevación en los niveles de FSH<sup>7</sup>. Por tanto, el objetivo principal que nos proponemos en esta revisión es analizar las características clínicas y patológicas de los pacientes con infertilidad y microdeleciones de AZF en nuestra experiencia.

## Material y métodos

Se realiza un estudio retrospectivo desde enero de 2009 a diciembre de 2013 a partir de la base de datos clínica correspondiente a los pacientes con azoospermias no obstructivas u oligozoospermias severas (< 5 mill/mL). De la muestra de pacientes de estas características se seleccionaron los que presentaban diagnóstico genético de microdeleción de la región AZF (región a, b y/o c).

Las variables analizadas fueron la edad, el pH y el volumen seminal (medido en mL), concentración de espermatozoides (mill/mL), motilidad total, FSH, LH y testosterona. Los valores seminales se obtienen de las muestras de semen en fresco recogidas en el laboratorio de andrología, donde se realizó análisis microscópico de la muestra más satisfactoria de un mínimo de 2 seminogramas y capacitación mediante técnica de *swim-up*. Los parámetros hormonales se obtienen mediante análisis de sangre periférica tomando como valores de referencia los del laboratorio de nuestro centro (FSH 2-12,4 mU/mL, LH 1,5-9,3 mU/mL, testosterona 3-10 ng/mL). El volumen testicular recogido fue evaluado mediante exploración física de un único andrólogo. Una vez obtenido el diagnóstico de azoospermia no obstructiva se estudia el cariotipo y las microdeleciones

del cromosoma Y a partir de muestra de sangre periférica mediante técnica de la PCR.

Tras valorar de nuevo el conjunto de datos obtenidos se ofrece a los pacientes con azoospermia la posibilidad de recuperación espermática mediante biopsia testicular. Esta se realiza de manera ambulatoria bajo anestesia local y realizando 3 incisiones localizadas en el polo superior, medio e inferior del testículo de mayor tamaño. De cada una de las incisiones se toman 2 muestras que son analizadas *in situ* por los biólogos del centro con el objetivo de identificar espermatozoides aptos para *intracytoplasmatic sperm injection* (ICSI) y criopreservarlos. Se toma una muestra más para ser remitida a anatomía patológica para su análisis estructural.

Las muestras son procesadas en microtubos para ser utilizadas posteriormente en ICSI. Mediante entrevista presencial o telefónica se informa al paciente de la intención del estudio y, tras el consentimiento verbal por su parte, se le interroga sobre el tratamiento de reproducción asistida ofertado y realizado a la pareja. Todos los pacientes fueron informados y dieron su consentimiento para participar en este estudio.

## Resultados

Los datos aparecen recogidos en la [tabla 1](#).

La edad media de los pacientes estudiados fue de 36,8 años. Un 90,9% de los pacientes presentaron azoospermia en el espermiograma. Un paciente presentaba una concentración de espermatozoides de 0,25 millones/mL. La motilidad progresiva en el espermiograma solo fue informada en el paciente no azoospermico y fue del 0%. El volumen y el pH seminal medios fueron normales (4,3 mL y 8,02, respectivamente).

Respecto al estudio hormonal la media de FSH fue 16 mU/mL (SD: 8,25), y de la testosterona 7,1 ng/mL (SD: 2,3). La media de LH fue 7 mU/mL (SD: 3,6).

El 45,5% de los pacientes presentaban un volumen testicular disminuido, al igual que el 45,5% presentó volumen testicular normal. Solo un paciente presentó volumen testicular atrófico ([fig. 1](#)).

A nivel genético un paciente presentó una alteración del cariotipo (XY q-) y otro un mosaicismo 46XY/45X. La alteración del cromosoma Y más frecuente fue la microdeleción de la región AZFc con un 45,5% (5 pacientes), 3 pacientes (27,3%) presentaron la alteración en la región AZFa. No apareció ningún paciente con microdeleción de la región AZFb. Dos pacientes mostraron la alteración completa de las 3 regiones con un estudio hormonal normal y volumen testicular normal; en un paciente se dio la alteración combinada AZFbc.

En los 3 pacientes en los que se realizó biopsia testicular el hallazgo anatomopatológico más frecuentemente

**Tabla 1** Características clínicas y analíticas de la muestra estudiada

|                 | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| AZF             | c    | a    | abc  | c    | c    | a    | c    | c    | a    | abc  | bc   |
| Cariotipo       | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 46XY | 45X  |
| Concentración   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0,25 | 0    | 0    | 0    |
| Motilidad +++   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 0    | -    | -    | -    |
| Motilidad ++    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 5    | -    | -    | -    |
| Motilidad +     | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 0    | -    | -    | -    |
| Vol. semen      | 2,9  | 3    | 4    | 3,5  | 3,4  | 4,3  | 8    | 3,7  | 1,4  | 7,8  | 5,5  |
| pH semen        | 8    | 8,1  | 7,9  | 8,1  | 8,1  | 8    | 8,1  | 7,9  | 8    | 8    | 8,1  |
| Vol. testicular | N    | Dis  | N    | Atr  | Dis  | Dis  | N    | N    | Dis  | N    | Dis  |
| FSH             | 12   | 24   | 13,9 | 12   | 12,7 | 15,3 | 14   | 8,6  | 15,3 | 14,3 | 38,6 |
| LH              | 4,4  | 5,9  | 7    | 6,8  | 6    | 7    | 7    | 4,1  | 6,3  | 5,4  | 17,5 |
| Testosterona    | 4,9  | 5,8  | 8    | 8,7  | 3,9  | 7    | 6    | 11,1 | 4,43 | 5,1  | 6,6  |
| Biopsia test.   | No   | SCS  | DM   | No   | No   | No   | No   | SCS  | No   | No   | No   |
| Spz aptos ICSI  | -    | No   | No   | -    | -    | -    | -    | No   | -    | -    | -    |
| TRA             | Adop | SD   | SD   | -    | SD   | SD   | SD   | SD   | SD   | SD   | -    |

FSH y LH expresadas en mU/mL. Testosterona expresada en ng/mL.

Adop: adopción; Atr: volumen testicular atrófico; Dis: volumen testicular disminuido; DM: detención madurativa en biopsia testicular; N: volumen testicular normal; SCS: solo células Sertoli en biopsia testicular; SD: semen donante; TRA: terapia de reproducción asistida.

encontrado fue el síndrome de células solo Sertoli o síndrome de Del Castillo (2 pacientes con alteraciones del AZFc y AZFa, respectivamente). Un paciente fue diagnosticado de detención madurativa. En ningún caso se pudieron recuperar espermatozoides aptos para terapia de reproducción asistida en la biopsia testicular practicada.

La opción de reproducción asistida más utilizada por las parejas fue la inseminación artificial con semen de donante (72,7%).

## Discusión

Solo un 3% de los casos de infertilidad en varones se debe a la alteración de la función o número de espermatozoides, usualmente expresada como azoospermia u oligozoospermia severa<sup>8</sup>.

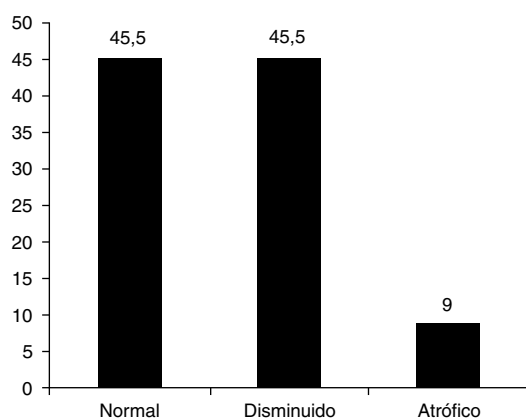
El gen AZF se divide en 3 regiones descritas como AZFa, AZFb y AZFc, todas situadas en el brazo largo del cromosoma Y (Yq11.23). Algunos trabajos postulan la existencia de una cuarta región, AZFd, situada entre las regiones AZFa

y AZFb<sup>9,10</sup>. Sin embargo, en otros estudios esta posibilidad no se contempla<sup>11</sup>. Se han identificado diversos genes críticos que se han denominado *sequence-tagged sites* (STS), cuya delección produce el efecto clínico. Los genes USP9Y, DBY y DDX3Y pertenecen a la región AZFa. RBMY1 y PRY pertenecen a la región AZFb. El gen *deleted in azoospermia* (DAZ), situado en la región AZFc se expresa en todos los pasos de la maduración espermática<sup>1</sup>.

No parece que los polimorfismos de los haplogrupos del cromosoma Y se relacionen con las alteraciones del AZF. Un estudio sobre una población danesa de varones oligozoospermicos sin delección del AZF reveló una proporción significativamente superior del haplogrupo 26+ respecto a la población general, sugiriendo un mecanismo de infertilidad diferente al de las microdelecciones Y<sup>12</sup>.

Los varones afectados por esta delección no acuden al andrólogo hasta la edad adulta debido a la infertilidad, hecho claramente vinculado a la alteración. No se ha demostrado que existan otras anomalías del desarrollo de caracteres sexuales primarios ni secundarios, así como cambios en el eje hipotálamo-hipofisario-gónadas. Como se indica en el apartado de *Introducción*, el perfil hormonal es actualmente objeto de debate. Existen algunos artículos que encuentran diferencias en alguno de los parámetros estudiados, diferencias que no han podido ser reproducidas y validadas ampliamente. Por ejemplo Frydelund-Larsen et al. encuentran un valor de FSH aumentado en el grupo portador de la microdelección<sup>7</sup>, hallazgo congruente con lo observado en nuestra muestra. La microdelección del cromosoma Y no forma parte de ningún síndrome complejo.

Es aceptable iniciar el estudio de las microdelecciones del cromosoma Y cuando la concentración espermática en el seminograma es inferior a 2 mill/mL, dado que la posibilidad de ser portador de una microdelección por encima de este número es prácticamente nula. La tasa de recuperación de espermatozoides aptos es significativamente superior en la técnica microscópica (micro-TESE) comparada con TESE convencional<sup>13</sup> y se debe ofrecer a los portadores de AZFc,



**Figura 1** Volumen testicular expresado en porcentaje.

pero no a los portadores de AZFa, AZFb y AZFbc<sup>14</sup>. Para AZFc la tasa de recuperación por micro-TESE es del 54%, siendo nula si la región ausente es la AZFa o AZFb. La posibilidad de encontrar espermatozoides aptos para ICSI no guarda relación con los niveles hormonales ni con otras características clínicas en estos pacientes<sup>15</sup>. En 2004 Choi et al. publicaron un trabajo en el que compararon las tasas de fertilización y embarazo en pacientes con AZF frente a un grupo control de varones con azoospermia secretora y estudio genético normal, demostrando que no existían diferencias estadísticamente significativas en las tasas de fertilización y gestación para los pacientes con microdeleción AZFc (33,3 vs 37,5%,  $p=0,57$ ), una vez obtenidos los espermatozoides por TESE o eyaculado<sup>16</sup>.

El método diagnóstico de las microdeleciones adoptado por convención es la doble reacción en cadena de la polimerasa (PCR) complex<sup>10</sup>, de una muestra de sangre periférica, aunque también es factible realizarla a partir de una muestra de semen<sup>17</sup>.

Nótese que en nuestra muestra a menos de un tercio de los pacientes se les realizó biopsia testicular, debido a que el resto la rechazó por la baja posibilidad de obtención de espermatozoides aptos, por lo que en este sentido nuestros datos son limitados y poco extrapolables. Por el mismo motivo no hemos podido obtener conclusiones respecto al resultado de la ICSI en estos pacientes.

La delección completa del AZFa (5%) conduce al síndrome de células solo Sertoli. Sin embargo, la delección completa del AZFb (3-10%) produce un síndrome de detención madurativa en la fase espermatocito-espermátide. Debido a la gran variabilidad y complejidad de la región AZFc, compuesta mayoritariamente por amplicones, la descripción genética de la misma ha supuesto un verdadero reto. La delección completa de la región c (60% de las delecciones Y) produce una azoospermia u oligozoospermia severa, con una concentración de espermatozoides por debajo de 1 mill/mL. Esta alteración tiene una prevalencia de 1/4.000. Sin embargo, la delección parcial de la región AZFc puede derivar en multitud de alteraciones histológicas y clínicas, dada su gran complejidad<sup>18</sup>.

Zhang et al. analizaron una muestra de 120 pacientes con microdeleciones Y sin poder encontrar un patrón común en los hallazgos histológicos de los pacientes con delección AZFc<sup>19</sup>.

La proporción de mutaciones en nuestra muestra es sensiblemente diferente respecto a la reportada en otras series. AZFa se presentó en un 27,2% de los casos frente al 5% observado en otros estudios<sup>18</sup>, en detrimento de AZFb y AZFc. Las alteraciones histológicas encontradas en los pacientes a los que se les realizó TESE coinciden con lo descrito en la literatura.

En nuestra muestra las opciones de fertilidad elegidas por nuestros pacientes (72% eligieron inseminación artificial con semen de donante o adopción) dan cuenta de la baja tasa de recuperación de espermatozoides, haciendo que la ICSI solo sea posible en un pequeño porcentaje de pacientes. Aun así, cuando esta es posible (AZFc), la tasa global de gestaciones a término no muestra diferencias respecto al resto de varones azoospermicos que optaron por la ICSI<sup>20</sup>. Además, algunos autores advierten de que la ICSI no solo conlleva invariablemente una transmisión vertical de la alteración a los fetos varones, sino que aumenta el riesgo de expansión y

nuevas delecciones<sup>21</sup>, si bien es cierto que los descendientes no presentan alteración somática congénita alguna<sup>2</sup>.

## Conclusión

Las microdeleciones del cromosoma Y son una causa relativamente frecuente de azoospermia secretora en varones infértiles, y se traducen clínicamente como alteración exclusiva de la línea germinal. El aumento en el número de estudios y el interés creciente en esta afección comienza a proporcionar evidencia suficiente para ofrecer la posibilidad de realizar en estos pacientes micro TESE para aumentar las posibilidades de éxito, biopsiar ambos testículos o ampliar el estudio con fragmentación del ADN.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Hotelling JM. Genetics of male infertility. *Urol Clin North Am*. 2014;41:1-17.
2. Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC. Clinical characterization of 42 oligospermic or azospermic men with microdeletion of the AZFc region of the Y chromosome, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum Reprod*. 2002;17:2813-24.
3. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet*. 1976;34:119-24.
4. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*. 1996;5:933-43.
5. Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet*. 1995;10:383-93.
6. Lahn BT, Page DC. Functional coherence of the human Y chromosome. *Science*. 1997;278:675-80.
7. Frydelund-Larsen L, Krausz C, Leffers H, Andersson AM, Carlsen E, Bangsboell S, et al. Inhibin B: A marker for the functional state of the seminiferous epithelium in patients with azoospermia factor C microdeletions. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5618-24.
8. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;291:1693-7.
9. Liu RZ. AZF deletions and male infertility. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2012;18:963-8.
10. Kent-First M, Muallem A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Noltén W, et al. Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol Reprod Dev*. 1999;53:27-41.
11. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl*. 2004;27:240-9.
12. Krausz C, Quintana-Murci L, Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Jobling MA, Rosser ZH, et al. Identification of a Y chromosome haplogroup associated with reduced sperm counts. *Hum Mol Genet*. 2001;10:1873-7.

13. Lo Giacco D, Chianese C, Sanchez-Curbelo J, Bassas L, Ruiz P, Rajmil O, et al. Clinical relevance of Y-linked CNV screening in male infertility: New insights based on the 8-year experience of a diagnostic genetic laboratory. *Eur J Hum Genet.* 2013;422:754–61.
14. Stahl PJ, Masson P, Mielnik A, Marean MB, Schlegel PN, Paduch DA. A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia. *Fertil Steril.* 2010;94:1753–6.
15. Park SH, Lee HS, Choe JH, Lee JS, Seo JT. Success rate of microsurgical multiple testicular sperm extraction and sperm presence in the ejaculate in Korean men with y chromosome microdeletions. *Korean J Urol.* 2013;54:536–40.
16. Choi JM, Chung P, Veeck L, Mielnik A, Palermo GD, Schlegel PN. AZF microdeletions of the Y chromosome and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2004;81:337–41.
17. Li HG, Ding XF, Wang C, Zhao JX, Zuo MD, Xiong CL. Detection of Y chromosome microdeletions in semen of patients with azoospermia: Study of 241 cases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2008;88:1662–5.
18. Navarro-Costa P, Plancha CE, Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: Thriller or filler for male (in)fertility? *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010: 936569.
19. Zhang F, Li L, Wang L, Yang L, Liang Z, Li J, et al. Clinical characteristics and treatment of azoospermia and severe oligospermia patients with Y-chromosome microdeletions. *Mol Reprod Dev.* 2013;80:908–15.
20. Van Golde RJ, Wetzels AM, de Graaf R, Tuerlings JH, Braat DD, Kremer JA. Decreased fertilization rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in the azoospermia factor c region of the Y chromosome. *Hum Reprod.* 2001;16:289–92.
21. Lee SH, Ahn SY, Lee KW, Kwack K, Jun HS, Cha KY. Intracytoplasmic sperm injection may lead to vertical transmission, expansion, and de novo occurrence of Y-chromosome microdeletions in male fetuses. *Fertil Steril.* 2006;85: 1512–5.