



DOCUMENTO

Recomendaciones para el estudio genético de la pareja con alteraciones en la reproducción

Concepción Alonso Cerezo^{a,b,*}, María Carmen Cañadas Gálvez^{c,d}, Luis Alfonso de la Fuente Hernández^{e,f}, Carlos García-Ochoa^{g,h}, José Miguel García Sagredoⁱ, Victoria González Villafáñez^{c,j}, Mercedes Marcos González^{k,l}, Rafael Oliva Virgili^m y María Orera Clemente^{n,ñ}

^aAsociación Española de Biopatología Médica, España

^bUnidad de Genética, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, España

^cSociedad Española de Ginecología y Obstetricia, Madrid, España

^dLaboratorio de Fecundación in Vitro, Clínica GINEFIV, Madrid, España

^eSociedad Española de Fertilidad, España

^fInstituto Europeo de Fertilidad, Madrid, España

^gAsociación Española de Andrología, España

^hCentro de Fertilización in Vitro de Asturias (CEFIVA), Oviedo, España

ⁱServicio de Genética Médica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^jUnidad de Ginecología, Clínica GINEFIV, Madrid, España

^kSociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, España

^lLaboratorio de Andrología, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

^mServicio de Genética, Hospital Clínic, Barcelona, España

ⁿAsociación Española de Genética Humana, España

^ñUnidad de Genética, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

Recibido el 7 de junio de 2009; aceptado el 17 de junio de 2009

Disponible en Internet el 24 de septiembre de 2009

PALABRAS CLAVE

Alteraciones en la reproducción;
Citogenética;
Consejo genético;
Estudios genéticos;
Recomendaciones

Resumen

Con el fin de mejorar la atención y el seguimiento de la pareja con alteraciones en la reproducción, varias asociaciones científicas y expertos han desarrollado las recomendaciones específicas para el estudio genético en la evaluación de los trastornos de la reproducción.

Siempre se debe garantizar un asesoramiento genético apropiado a la pareja, tanto antes como después del estudio genético. Las pruebas genéticas se han clasificado como pruebas altamente recomendables, recomendables u opcionales, según su resultado modifique el pronóstico. La indicación de las pruebas genéticas en la mujer con alteraciones en la reproducción se ha clasificado sobre la base de la historia clínica personal y familiar y puede abarcar el cariotipo en sangre periférica, el estudio molecular del gen *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), de X frágil, del factor II, del factor V y de

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: calonsoc.hlpr@salud.madrid.org (C. Alonso Cerezo).

KEYWORDS

Cytogenetic;
Impaired
reproduction;
Genetic counselling;
Genetic studies;
Recommendations

metilentetrahidrofolato还原酶 (MTHFR). Respecto a los varones con alteraciones en la reproducción, cualquier estudio genético debe ir precedido por un estudio andrológico, que debe incluir al menos una historia clínica personal, familiar y el análisis de semen. Se puede indicar el cariotipo en sangre periférica, el estudio molecular de *CFTR*, las microdelecciones en el cromosoma Y, la hibridación fluorescente in situ (FISH, por sus siglas en inglés) en espermatozoides, el estudio de meiosis en tejido testicular y la fragmentación del ADN.

© 2009 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Recommendations for the genetic study of couples with impaired reproduction**Abstract**

In order to improve the care and follow up of couples with impaired reproduction, several scientific societies and experts have established specific recommendations for genetic testing in the evaluation of reproductive disorders in couples with impaired reproduction. Appropriate genetic counselling must be given to the couple before and after the genetic testing. Genetic tests have been classified as “highly recommended,” “recommended” or “optional” depending on whether the results have changed the prognosis of the corresponding pathology. The indication for genetic testing in women with impaired reproduction is classified on the basis of personal and family medical history and can include the karyotype in peripheral blood, the molecular study of *CFTR*, *Fragile X*, factor II, factor V and *MTHRF*. As regards men with impaired reproduction, every genetic study should be preceded by an andrological study, which must include at least the personal and family history and a semen analysis. A medical indication can be made for the karyotype in peripheral blood, the molecular study of *CFTR*, microdeletions on the Y chromosome, FISH sperm FISH, meiosis in testicular tissue studies, and DNA fragmentation.

© 2009 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La esterilidad primaria es la que presenta una pareja que nunca ha podido lograr un embarazo después de intentarlo durante al menos 1 año de relaciones sexuales sin métodos anticonceptivos, mientras que la esterilidad secundaria es el término utilizado para describir a las parejas si, tras una gestación conseguida sin tratamiento, transcurren más de 12 meses sin conseguir un nuevo embarazo¹. La esterilidad primaria o secundaria afecta a cerca del 15% de las parejas en los países industrializados²⁻⁴.

Se define fertilidad como la capacidad para conseguir un embarazo tras 1 año de exposición regular al coito. La fertilidad de una pareja depende de las funciones reproductivas coordinadas y combinadas del varón y de los sistemas reproductivos femeninos. Los defectos anatómicos, la disfunción de gametogénesis, las endocrinopatías, las alteraciones inmunológicas, la alteración en la eyaculación, etc., son causas significativas de alteraciones de la reproducción. Las causas de las alteraciones de la fertilidad radican en un 50% en las mujeres, en un 30% en los varones y en un 20% en ambos. Se estima que los problemas de fertilidad tienen un origen genético en el 15% de los varones y en el 10% de las mujeres⁵. Aunque ahora muchas causas de las alteraciones de fertilidad pueden determinarse en ambos, aproximadamente un 15% todavía recibe un diagnóstico de esterilidad idiopática. Probablemente un subconjunto de estos pacientes tiene un desorden genético subyacente.

Actualmente se están identificando muchos genes que intervienen en el desarrollo y la función del eje

hipofisario-gonadal. Sin embargo, en este momento no es posible realizar el estudio genético de todos los genes que intervienen en la fertilidad humana, y debe indicarse el estudio según las características clínicas de la pareja, la prevalencia y el riesgo de transmisión de la enfermedad. La evaluación del origen genético de la esterilidad y la realización del consejo genético adecuado en cada caso evitan exploraciones y tratamientos innecesarios a pacientes estériles y asesoran sobre la posible transmisión de la alteración genética a los descendientes.

En el desarrollo de este documento han intervenido profesionales expertos de diversas sociedades científicas españolas (**tabla 1**). El objetivo de este documento es proporcionar las recomendaciones para el estudio genético en la evaluación de los trastornos de la reproducción. En este documento se excluye el estudio de las enfermedades sistémicas que se asocian a alteraciones de la reproducción.

Tabla 1 Sociedades científicas participantes

Asociación Española de Andrología
Asociación Española de Biopatología Médica
Asociación Española de Genética Humana
Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
Sociedad Española de Fertilidad
Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular
Expertos en genética clínica de esterilidad

Se revisan las causas y se proporcionan las indicaciones de las pruebas genéticas.

Las parejas pueden haber tenido una evaluación previa endocrina, ginecológica, andrológica, o por otros especialistas, para descartar otras causas. Se debe investigar en la

Tabla 2 Antecedentes personales, familiares y exploración mínima para el estudio de la pareja con alteraciones en la reproducción

Antecedentes personales mujeres
Malformaciones al nacimiento
Desarrollo psicomotor
Menarquia
Ciclos: duración y características
Antecedentes personales varones
Malformaciones al nacimiento
Desarrollo psicomotor
Anosmia
Edad de aparición de caracteres sexuales secundarios (vello, barba, etc.)
Árbol genealógico
Debe comprender 3 generaciones (hijos, hermanos, padres, sobrinos, tíos, primos)
La consanguinidad en la pareja debe reflejarse en el árbol (detectar hermanos 2, 3, 4, etc. generaciones por encima)
Debe recoger los antecedentes familiares de menopausia precoz, aborto espontáneo/inducido (anotar tiempo de la gestación y el sexo del feto, si se conoce), muerte fetal y muerte neonatal (datos de la autopsia), malformaciones, esterilidad, retraso mental o en el desarrollo, coagulopatías, enfermedades genéticas/ otras
Exploración mujeres
Estatura
Aspecto fenotípico: obesidad, etc.
Distribución del cabello (occipital)
Cuello (tamaño, pterigium)
Tórax en escudo
Teletelia
Distribución del vello
Genitales externos
Exploración varones
Estatura, especificando segmento superior/segmento inferior
Aspecto fenotípico: eunucoide, obeso, etc.
Distribución del cabello (frontal y occipital)
Cara alargada
Pabellones auriculares (tamaño, despegados)
Prognatismo
Distribución del vello
Ginecomastia
Escroto (aspecto y pigmentación)
Pene (tamaño, hipospadias, etc.)
Testículos (tamaño, consistencia, criptorquidia, varicocele)

historia clínica personal y familiar mediante la realización de un árbol genealógico. Se debe incidir en la consanguinidad de la pareja y en los antecedentes familiares de esterilidad, retraso mental, enfermedades musculares progresivas, cataratas tempranas, alteraciones en la coagulación, minusvalías, malformaciones o parálisis al nacimiento. En la [tabla 2](#) se indica el cuestionario sobre los antecedentes personales, los antecedentes familiares y la exploración mínima que puede ayudar al estudio de la pareja.

Recomendaciones para el uso de las pruebas genéticas

Cuando se lleve a cabo un análisis genético será preciso garantizar al individuo un asesoramiento genético apropiado y respetar en todo caso el criterio de la persona interesada. El profesional que realice o coordine el consejo genético deberá ofrecer una información y un asesoramiento adecuados, relativos tanto a la trascendencia del diagnóstico genético resultante, como a las posibles alternativas por las que podrá optar el sujeto a la vista de aquél⁶. También debe existir un compromiso de suministrar consejo genético, una vez obtenidos y evaluados los resultados del análisis.

El uso de las pruebas genéticas se ha clasificado como: altamente recomendables, aquellas pruebas que se deberían hacer siempre y cuyo resultado modifica el pronóstico de forma demostrada; recomendables, aquellas pruebas cuyo resultado puede modificar el pronóstico aunque no se ha demostrado concluyentemente esta asociación, y optionales, aquellas pruebas cuyo resultado no modifica el pronóstico de forma demostrada ([tabla 3](#)).

Recomendaciones para la mujer con alteraciones en la reproducción

La indicación de las pruebas genéticas en la mujer con alteraciones en la reproducción se ha clasificado sobre la base de la historia clínica de la mujer y se resume en la [tabla 4](#).

Cariotipo en sangre periférica

La frecuencia de las anomalías cromosómicas se sitúa entre un 0,7 y un 0,8% de los recién nacidos vivos⁷. Los individuos portadores de alteraciones cromosómicas pueden presentar fenotipos normales pero ofrecen un riesgo aumentado a su descendencia, que puede estar afectada por alteraciones congénitas, retraso mental, abortos de repetición o alteraciones en la reproducción. La prevalencia de las alteraciones cromosómicas en las mujeres con problemas reproductivos

Tabla 3 Clasificación en el uso de las recomendaciones

Altamente recomendable: pruebas que se deberían hacer siempre y cuyo resultado modifica el pronóstico de forma demostrada
Recomendable: pruebas cuyo resultado puede modificar el pronóstico, aunque no se ha demostrado concluyentemente esta asociación
Opcional: pruebas cuyo resultado no modifica el pronóstico de forma demostrada

Tabla 4 Recomendaciones de estudio genético en la mujer

Cariotipo en sangre periférica

Altamente recomendable

- Sospecha de reserva funcional ovárica inadecuada para la edad de la paciente: fallo ovárico oculto, amenorrea primaria, etc.
- Fenotipo sugestivo de cromosomopatía
- 2 abortos o más con la pareja actual o anteriores parejas
- Antecedentes familiares de primer grado de cromosomopatías
- Fracaso reiterado de FIV o ICSI, sin causa aparente que lo justifique: fallo de fecundación, desarrollo embrionario anómalo, fallo de implantación

Recomendable

- Desconocimiento total de antecedentes familiares
- Antecedentes de cromosomopatías en abortos con pareja actual o anterior
- Cualquier pareja con diagnóstico de esterilidad idiopática que vaya a someterse a FIV

Estudio molecular de *CFTR*

Altamente recomendable

- Pareja portador de mutación de la fibrosis quística
- Antecedentes familiares de fibrosis quística

Recomendable

- Consanguinidad

Estudio de X frágil

Altamente recomendable

- Antecedentes familiares de varones con retraso mental no filiado
- Antecedentes familiares de X frágil
- Antecedentes familiares de fallo ovárico precoz
- Fallo ovárico precoz idiopático

Recomendable

- Fallo ovárico idiopático
- Antecedentes familiares de retraso mental sin filiar

Estudio molecular de factor II, factor V y MTHFR

- Opcional, en el marco de una investigación clínica de trombofilias hereditarias

CFTR: *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*; FIV: fecundación in vitro; ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides; MTHFR: metilentetrahidrofolato Reductasa.

está aumentada con respecto a la población general⁸⁻¹¹. Las alteraciones estructurales o numéricas en el cromosoma X, la presencia del cromosoma Y o las alteraciones estructurales de los autosomas (translocaciones recíprocas, translocaciones robertsonianas, inversiones o marcadores cromosómicos) pueden occasionar alteraciones en la reproducción de origen materno¹².

Las sociedades científicas han acordado como altamente recomendable el análisis del cariotipo en sangre periférica

cuando se sospecha una reserva funcional ovárica inadecuada para la edad de la paciente (fallo ovárico oculto, amenorrea primaria...)¹⁰, ante un fenotipo sugestivo de cromosomopatía¹³, cuando hay antecedentes de dos o más abortos con pareja actual o anteriores parejas^{11,14}, si existen antecedentes familiares de primer grado de cromosomopatías¹² o bien cuando existe un fracaso reiterado de fecundación in vitro (FIV) o inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) sin causa aparente que lo justifique¹⁵; como recomendable han acordado realizar cariotipo en sangre periférica cuando exista un desconocimiento total de los antecedentes familiares, antecedentes de cromosomopatías en abortos con pareja actual o anterior¹⁴ y en cualquier pareja con diagnóstico de esterilidad idiopática que vaya a realizarse técnicas de FIV¹⁵.

Fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad que se transmite de forma autosómica recesiva, causada por mutaciones de un gen conocido como *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) (7q31.2). La prevalencia de afectados es de 1 por cada 2.500 nacimientos y de heterocigotos, de 1 por cada 25¹⁶. El consorcio para el análisis genético de la FQ suministra la información sobre las mutaciones a través de Internet (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). Actualmente se conocen más de 1.500 mutaciones de este gen. La mutación deltaF508 es la más prevalente. Las mujeres diagnosticadas de FQ son fértiles. Se ha considerado altamente recomendable la realización de estudio molecular en la mujer cuando la pareja es portadora de una mutación de FQ o presenta antecedentes familiares^{17,18}.

Estudio de X frágil

Las mujeres portadoras de premutación en el gen *FMR1* (*fragile X mental retardation 1*) tienen riesgo de insuficiencia ovárica prematura (IOP), que se define como menopausia a la edad de menos de 40 años¹⁹. Se sospecha que una mujer es portadora de esta premutación si tiene antecedentes familiares de mujeres con IOP y de varones diagnosticados de retraso mental.

El gen está situado en el locus Xq27.3. Su expansión inestable o la metilación anormal del gen da lugar a la supresión de la transcripción del *FMR1* y a niveles cerebrales disminuidos de la proteína que codifica, que son los responsables del síndrome de X frágil. El número de repeticiones no se relaciona con el retraso mental asociado al síndrome, sino que aumenta el riesgo creciente de IOP en las mujeres portadoras. Debido a la inestabilidad de la repetición sobre la transmisión de los alelos premutados, las mujeres presentan riesgo de tener niños afectados con síndrome de X frágil²⁰.

El grupo estima que el estudio de X frágil es altamente recomendable cuando la mujer tiene antecedentes familiares de varones con retraso mental no filiado, de X frágil o de insuficiencia ovárica precoz, o cuando la propia mujer presenta una IOP²¹. Se incluye como recomendable cuando la mujer presenta una insuficiencia ovárica idiopática o antecedentes familiares de retraso mental sin filiar.

Estudio de trombofilias

Las trombofilias, tanto heredadas como adquiridas, se han asociado a abortos recurrentes. El factor V Leiden se desactiva a un ritmo aproximadamente 10 veces más lento que el factor V normal y persiste más tiempo en la circulación, lo que provoca un incremento en la generación de trombina y un estado leve de hipercoagulabilidad. La mutación del factor V Leiden se encuentra en la población caucásica entre un 3 y un 5% en heterocigosis y en un 1% en homocigosis. El diagnóstico de la trombofilia debida al factor V Leiden puede realizarse mediante el estudio del test de cribado de coagulación de la resistencia a la proteína C activada.

La mutación G20210A de la protrombina se encuentra en un 2–3% de la población en heterocigosis, mientras que es infrecuente en homocigosis²². La segunda generación del test de resistencia a la proteína C activada, realizado con el plasma diluido en otro deficiente en factor V, tiene una especificidad diagnóstica equivalente al directo basado en el estudio del ADN y es menos costosa que éste²³. La deficiencia de protrombina se utiliza como cribado de la mutación G20210A de este factor.

Otras deficiencias de proteínas anticoagulantes, como la proteína C, la proteína S y la antitrombina III, se han implicado como causa de abortos recurrentes con una frecuencia menor y se recomienda estudiarlas cuando existe una historia clínica personal o familiar de tromboembolia venosa²⁴.

Un metaanálisis²⁵ ha demostrado que existe un riesgo 3 a 4 veces mayor de abortos recurrentes en las mujeres con hiperhomocisteinemia. Las mujeres embarazadas portadoras de la mutación en el gen de la metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR) pueden tener niveles normales de homocisteína, probablemente por el suplemento de folato en la dieta²⁶. El cribado de los niveles de homocisteína puede ser más relevante que el estudio de las mutaciones del gen de la MTHFR.

El grupo ha considerado el estudio genético de las trombofilias como opcional en el marco de una investigación clínica de trombofilias.

Recomendaciones en el varón con alteraciones en la reproducción

El diagnóstico genético y el asesoramiento genético deberían incluirse siempre en la evaluación de estos pacientes. Los análisis clínicos básicos deberían preceder a cualquier análisis genético.

Cualquier estudio genético realizado en varones en el marco reproductivo debe ir precedido por un estudio andrológico, que debe incluir al menos una historia clínica que constate los datos clínicos reflejados en la tabla 1 y el análisis de semen. Cuanto mayor sea la desviación de la normalidad en el análisis seminal previo, mayor será la probabilidad de encontrar alteraciones genéticas asociadas, y mejorar así tremadamente la eficacia de los análisis genéticos.

Las recomendaciones en el varón con alteraciones en la reproducción se presentan en la tabla 5.

Cariotipo en sangre periférica

La prevalencia de alteraciones cromosómicas constitucionales es más alta en los varones estériles que en la población

Tabla 5 Recomendaciones de estudios genéticos en el varón

Cariotipo en sangre periférica

Altamente recomendable

- Fenotipo sugestivo de cromosomopatía
- Azoospermia u oligozoospermia grave
- Más de 2 abortos con pareja actual o anteriores parejas
- Antecedentes familiares de primer grado de cromosomopatías
- Fracaso reiterado de FIV o ICSI, sin causa aparente que lo justifique: fallo de fecundación, desarrollo embrionario anómalo, fallo de implantación

Recomendable

- Desconocimiento total de antecedentes familiares
- Antecedentes de cromosomopatías en abortos con pareja actual o anterior
- Cualquier pareja con diagnóstico de esterilidad idiopática que vaya a someterse a FIV

Estudio molecular de CFTR

Altamente recomendable

- Ausencia uni o bilateral de conductos deferentes
- Pareja portadora de mutación de la fibrosis quística
- Antecedentes familiares de fibrosis quística

Recomendable

- Azoospermia
- Consanguinidad

Estudio de microdelecciones Y

Altamente recomendable

- Azoospermia o recuento espermático inferior a 1 millón/ml

Recomendable

- Recuento espermático inferior a 5 millones/ml o a 10 millones en el eyaculado total

FISH en espermatozoides. Estudio de meiosis en tejido testicular. Fragmentación del ADN

Opcional

CFTR: *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*;

FISH: hibridación fluorescente in situ; FIV: fecundación in vitro; ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

general. La frecuencia de cromosomopatías en la población general es inferior al 1%. En los varones infériles se encuentran alteraciones de los cromosomas sexuales en el 3,7%, mientras que aparecen alteraciones de otros cromosomas en el 2,4%. Las alteraciones cromosómicas más frecuentes encontradas en los varones incluyen alteraciones numéricas (síndrome de Klinefelter, XXY, mosaicismos del cromosoma X) y alteraciones estructurales (translocaciones recíprocas, translocaciones robertsonianas, marcadores cromosómicos supernumerarios, inversiones, duplicaciones)^{12,27}.

Esterilidad. La frecuencia de alteraciones cromosómicas es menor del 1% en los varones con espermiograma normal, si hay oligospermia es del 5% y con azoospermia oscila entre el 10 y el 15%^{28,29}.

Pérdida gestacional recurrente. Aproximadamente el 50% de las gestaciones que terminan espontáneamente en el primer trimestre de embarazo tienen una alteración cromosómica. A medida que progresó la edad gestacional disminuye esta frecuencia, de forma que en los abortos que se producen cerca del final de la gestación hay una frecuencia de cromosomopatías del 0,5%.

La frecuencia de las alteraciones cromosómicas en uno u otro progenitor en las parejas con pérdida gestacional recurrente (2 abortos, o un aborto y un feto malformado) se encuentra en torno al 4%.

Un alto porcentaje de las alteraciones cromosómicas detectadas en los abortos de primer trimestre está relacionado con graves alteraciones postcigóticas, que suelen ocurrir de novo en parejas con cariotipos normales. La identificación de alteraciones cromosómicas en el tejido abortivo es de difícil interpretación y debe ir acompañada de un consejo genético en el que se especifique el riesgo de recurrencia, que en ausencia de alteraciones cromosómicas parentales demostrables es insignificante. Este hecho debe tenerse en cuenta a la hora de realizar cariotipos en restos fetales, pues la aparición de anomalías suele interpretarse como un factor pronóstico negativo, cuando en realidad afecta muy poco al riesgo de las siguientes gestaciones.

Fracaso de técnicas de reproducción asistida. El fracaso reiterado de FIV o ICSI sin causa aparente que lo justifique, el fallo de fecundación, el fallo de implantación o el desarrollo embrionario anómalo sugieren la posibilidad de que existan alteraciones cromosómicas no detectadas. En la valoración de la posibilidad de realizar cariotipo en ambos progenitores, debe tenerse en cuenta la relación coste beneficio y la eficiencia, pues, si bien se trata de una prueba mínimamente invasiva y de bajo coste, en este momento no se dispone de información suficiente para determinar su rendimiento diagnóstico.

Se considera obligatorio el análisis del cariotipo en sangre periférica en los casos de oligospermia menor de $10 \times 10^6/\text{ml}$, abortos de repetición, antecedentes de cromosomopatía en familiares de primer grado (padres, hijos y hermanos) y portadores conocidos de cromosomopatía.

Se recomienda la realización de cariotipo cuando se desconozcan los antecedentes familiares, exista un fracaso reiterado de FIV o ICSI sin causa aparente que lo justifique, o cuando exista un desarrollo embrionario anómalo o un fallo de implantación.

Dada la disparidad de criterios entre los distintos autores sobre la aplicabilidad clínica del cariotipo en el resto de los casos, se recomienda que se valore con la pareja los posibles beneficios y riesgos de la realización o no de esta prueba.

Si un paciente es portador de una alteración cromosómica y se consigue una gestación de su pareja, bien espontáneamente o bien por técnicas de reproducción asistida, debe ofrecerse el consejo genético y el estudio prenatal mediante biopsia corial o amniocentesis.

Estudio molecular del gen CFTR

En las alteraciones en la reproducción de causa masculina debidas a azoospermia obstructiva o a ausencia congénita bilateral de los vasos deferentes (CBAVD, por sus siglas en inglés) se demuestran comúnmente las mutaciones del gen

CFTR. El 99% de los varones adultos con diagnóstico de FQ presenta ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes. La CBAVD también se encuentra en el 1–2% de los varones estériles sin FQ³⁰.

Aproximadamente el 80% de los pacientes con CBAVD son portadores de dos mutaciones *CFTR*, es decir heterocigotos compuestos. Los criterios de indicación del estudio molecular del gen *CFTR* son los siguientes: azoospermia, bajo volumen de líquido seminal (menos de 2,0 ml), pruebas bioquímicas características (pH inferior a 7,2, ausencia o disminución de fructosa y de alfa 1-4 glucosidasa), ausencia de vasos deferentes palpables, alteraciones en la ecografía transrectal. Los niveles plasmáticos de hormona folículo-estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y los niveles de testosterona son normales¹⁸.

Microdeleciones del cromosoma Y

Las alteraciones en la reproducción asociadas a microdeleciones del cromosoma Y pueden acompañarse de azoospermia, oligozoospermia grave de tipo secretor (FSH baja, menos de un millón de espermatozoides/ml de semen) o moderada (1 a 5 millones espermatozoides/ml de semen). De forma mucho más rara pueden acompañarse de oligospermia leve (5 a 20 millones de espermatozoides/ml de semen). Aunque el examen físico puede revelar los testículos pequeños o criotorquidia, generalmente no presentan ninguna alteración en el fenotipo.

El diagnóstico de sospecha se realiza en varones sanos con azoospermia u oligozoospermia grave siempre que se hayan excluido otras causas. La prueba molecular revela microdeleciones del brazo largo del cromosoma Y entre un 5% y un 10% de estos varones^{31,32}.

Las microdeleciones del cromosoma Y suelen ser de novo, aunque se puede conseguir una gestación mediante inyección intracitoplasmática de esperma, con lo que en el caso de descendencia masculina se transmite la delección y la infertilidad^{31,33}.

Se recomienda realizar estudio molecular de microdeleciones del Y en azoospermia y en oligospermia grave.

Hibridación fluorescente in situ (FISH) en espermatozoides

Las alteraciones graves en la reproducción masculina se asocian a la inadecuada recombinación meiótica y a la elevación de aneuploidía en los cromosomas del espermatozoide, lo que aumenta el riesgo de letalidad del embrión o de alteraciones fetales. Aunque todavía existen dificultades en la interpretación de los datos de aneuploidía, los avances en la FISH han facilitado el estudio de los espermatozoides de pacientes con graves defectos de la espermatogénesis, que ha puesto de manifiesto la evaluación de aneuploidía en esperma de varones con infertilidad masculina grave, tales como la azoospermia no obstructiva o con graves defectos estructurales, especialmente en casos de fracasos repetidos en la FIV o en la inyección intracitoplasmática de esperma. Se recomienda en varones portadores de translocaciones cromosómicas y abortos recurrentes. También puede ser beneficiosa en pacientes con inexplicables fracasos repetidos de FIV³⁴.

Estudio de meiosis en tejido testicular

La recombinación meiótica no sólo sirve para generar la diversidad genética, sino también cruces de cromosomas homólogos, lo que facilita la correcta segregación de los cromosomas durante la meiosis. Las anomalías en la frecuencia y en la ubicación de los cruces están relacionadas con la falta de disyunción de cromosomas homólogos y la producción de gametos aneuploides.

La inadecuada separación de los cromosomas durante la meiosis puede resultar en espermatozoides desequilibrados genéticamente. Si estos gametos participan en la fertilización, el embrión resultante puede ser aneuploide, ya sea trisómico o monosómico. La aneuploidía es la anormalidad cromosómica más común en los seres humanos, ya que se produce en el 5% de todos los embarazos y en el 0,3% de los nacidos vivos³⁵.

Los estudios sobre la constitución cromosómica de los espermatozoides de los varones infértiles han demostrado que esta población puede tener un riesgo aumentado de producir espermatozoides aneuploides³⁶.

La incidencia de anomalías sinápticas es de un 6 a un 8%, que puede llegar a un 17,6% en varones con una grave oligozoospermia, y al 27% en los varones normozoospérmicos con uno o más fracasos anteriores de FIV³⁷.

Dado que el estudio de la meiosis en el tejido testicular no modifica el pronóstico se recomienda como estudio opcional.

Fragmentación del ADN

La fragmentación del ADN del esperma es más común en varones con alteraciones en la reproducción y puede afectar a los resultados reproductivos de las parejas con abortos espontáneos o con esterilidad idiopática. Sin embargo, los métodos actuales para evaluar la integridad del ADN del esperma no predicen de manera fiable los resultados del tratamiento y no se ha demostrado ningún tratamiento de valor clínico para la integridad del ADN anormal, por lo que el estudio del ADN fragmentado se recomienda como opcional³⁸.

Bibliografía

- Infertility revisited: The state of the art today and tomorrow. The ESHRE Capri Workshop. European Society for Human Reproduction and Embryology. *Hum Reprod* 1996; 11: 1779–807.
- Greenhall E, Vessey M. The prevalence of subfertility: A review of the current confusion and a report of two new studies. *Fertil Steril*. 1990;54:978–83.
- De Kretser DM. Male infertility. *Lancet*. 1997;349:787–90.
- Healy DL, Trounson AO, Andersen AN. Female infertility: Causes and treatment. *Lancet*. 1994;343:1539–44.
- Forest C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur J Hum Genet*. 2002;10:303–12.
- Ley de Investigación Biomédica. L. 14/2007 de 3 de julio. Boletín Oficial del Estado. N.º 159, (Jul. 4, 2007).
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Principles of clinical cytogenetics. En: Thompson & Thompson. Genetics in medicine, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2004. p. 135–55.
- Schreurs A, Legius E, Meuleman C, Fryns JP, D'Hooghe TM. Increased frequency of chromosomal abnormalities in female partners of couples undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2000;74:94–6.
- Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Wasels R, et al. The Association des Cytogeneticiens de Langue Française. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: An equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod*. 2001;16:82–90.
- Papanikolaou EG, Vernaeve V, Kolibianakis E, Assche EV, Bonduelle M, Liebaers I, et al. Is chromosome analysis mandatory in the initial investigation of normovulatory women seeking infertility treatment?. *Hum Reprod*. 2005;20: 2899–2903.
- Riccaboni A, Lalatta F, Caliari I, Bonetti S, Somigliana E, Ragni G. Genetic screening in 2,710 infertile candidate couples for assisted reproductive techniques: Results of application of Italian guidelines for the appropriate use of genetic tests. *Fertil Steril*. 2008;89:800–8.
- Mckinlay Gardner RJ, Sutherland GR. The origins and consequences of chromosome pathology. En: Chromosome abnormalities and genetic counselling. 3rd ed. New York: Oxford University Press; 2004. p 21–49.
- Bondy CA, Turner Syndrome Study Group. Care of girls and women with Turner syndrome: A guideline of the Turner Syndrome Study Group. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92: 10–25.
- Simpson JL, Bombard A. Chromosomal abnormalities in spontaneous abortion: Frequency, pathology and genetic counselling. En: Bennett MJ, Edmonds DK, editores. Spontaneous and recurrent abortion. Oxford: Blackwell Scientific; 1987. p. 51–76.
- Soini S, Ibarreta D, Anastasiadou V, Aymé S, Braga S, Cornel M, et al. ESHG; ESHRE. The interface between assisted reproductive technologies and genetics: Technical, social, ethical and legal issues. *Eur J Hum Genet*. 2006;14:588–645.
- Lewis-Jones DL, Gazvani MR, Mountford R. Cystic fibrosis in infertility: Screening before assisted reproduction: Opinion. *Hum Reprod*. 2000;15:2415–17.
- Castellani C, Cuppens H, Macek M, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros*. 2008;7:179–96.
- Dequeker E, Stuhrmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Clausures M, et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders - updated European recommendations. *Eur J Hum Genet*. 2009;17:51–65.
- Bretherick KL, Fluker MR, Robinson WP. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. *Hum Genet*. 2005;117:376–82.
- Machado-Ferreira MC, Costa-Lima MA, Boy RT, Esteves GS, Pimentel MMG. Premature ovarian failure and FRA-XA premutation: Positive correlation in a Brazilian survey. *Am J Med Genet A*. 2004;126A:237–40.
- Allingham-Hawkins DJ, Babul-Hirji R, Chitayat D, Holden JJA, Yang KT, Lee C, et al. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: The international collaborative POF in fragile X study-preliminary data. *Am J Med Genet*. 1999;83:322–5.
- Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovich DS, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost*. 1998;79:706–8.
- Press RD, Bauer KA, Kujovich JL, Heit JA. Clinical utility of factor V Leiden (R506Q) testing for the diagnosis and management of thromboembolic disorders. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126:1304–18.
- Laurino MY, Bennett RL, Saraiya DS, Baumeister L, Doyle DL, Leppig K, et al. Genetic evaluation and counselling of couples with recurrent miscarriage: Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*. 2005;14:165–8.

25. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, Den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: A meta-analysis. *Fertil Steril*. 2000;74:1196–9.
26. Powers R, Dunbar M, Gallaher M, Roberts JM. The 677 C-T methylenetetrahydrofolate reductase mutation does not predict increased maternal homocysteine during pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2003;101:762–6.
27. Chandley AC. Chromosome anomalies and Y chromosome microdeletions as causal factors in male infertility. *Hum Reprod*. 1998;13:45–50.
28. Peshka B, Leygraaf J, Van der Ven K, Montag M, Schartmann B, Schubert R. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1999;14:2257–63.
29. Egoscue S, Blanco J, Vendrell M, García F, Veiga A, Aran B, et al. Human male infertility: Chromosome abnormalities, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update*. 2000;6:93–105.
30. Blau H, Freud E, Mussaffi H, Werner M, Konen O, Rathaus V. Urogenital abnormalities in male children with cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 2002;87:135–8.
31. Oliva R, Margarit E, Ballesca JL, Carrió A, Sánchez A, Milà M, et al. Prevalence of Y chromosome microdeletions in oligospermic and azoospermic candidates for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 1998;70:506–10.
32. 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.
33. Bhasin S. Approach to the infertile man. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1995–2004.
34. Carrell DT. The clinical implementation of sperm chromosome aneuploidy testing: Pitfalls and promises. *J Androl*. 2008;29: 124–133.
35. Hassold T, Abruzzo M, Adkins K, Griffin D, Merrill M, Millie E, et al. Human aneuploidy: Incidence, origin and etiology. *Environ Mol Mutagen*. 1996;28:167–75.
36. Ferguson KA, Wong EC, Chow V, Nigro M, Ma S. Abnormal meiotic recombination in infertile men and its association with sperm aneuploidy. *Hum Mol Genet*. 2007;16:2870–9.
37. Egoscue J, Sarrate Z, Codina-Pascual M, Egoscue S, Oliver-Bonet M, Blanco J, et al. Meiotic abnormalities in infertile males. *Cytogenet Genome Res*. 2005;111: 337–42.
38. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical utility of sperm DNA integrity testing. *Fertil Steril*. 2008;90:S178–80.