

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

Concepción Alonso Cerezo^a, M. Carmen Cañadas Gálvez^b, Luis Alfonso de la Fuente Hernández^c, Carlos García-Ochoa^d, José Miguel García Sagredo^e, Victoria González Villafañez^b, Mercedes Marcos González^f, Rafael Oliva Virgili^c y María Orera Clemente^g

^aAsociación Española de Biopatología Médica. España.

^bSociedad Española de Ginecología y Obstetricia. España.

^cSociedad Española de Fertilidad. España.

^dAsociación Española de Andrología. España.

^eExpertos en Genética Clínica de Esterilidad. España.

^fSociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. España.

^gAsociación Española de Genética Humana. España.

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 dependiendo de que su resultado modifique el pronóstico. La indicación de las pruebas genéticas en la mujer con alteraciones en la reproducción se ha clasificado basándose en la historia clínica personal y familiar y puede abarcar el cariotipo en sangre periférica, el estudio molecular de CFTR, de X frágil, del factor II, del factor V y de MTHRF. Respecto a los varones con alteraciones en la reproducción, cualquier estudio genético debe de 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 en espermatozoides, el estudio de meiosis en tejido testicular y la fragmentación del ADN.

Palabras clave: Alteraciones en la reproducción. Citogenética. Consejo genético. Estudios genéticos. Recomendaciones.

ABSTRACT

Recommendations for the genetic study of couples with impaired reproduction

In order to improve the care and following of the couple with impaired reproduction, several scientific societies and experts have developed specific recommendations for genetic testing in the evaluation of reproductive disorders in couples with impaired reproduction.

An appropriate genetic counselling must be granted for the couple, before as well as after the genetic testing. Genetic tests has been classified in “highly recommended”, “recommended” or “optional” depending if theirs 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 cover the karyotype in peripheral blood, the molecular study of CFTR, Fragile X, factor II, factor V and MTHRF. Related men with impaired reproduction, every genetic study should be preceded by an andrological study, which must include at least one clinical staff, family and analysis of semen. A medical indication can be made for the karyotype in peripheral blood, the molecular study of CFTR, microdeletions on the Y chromosome sperm FISH in the study of meiosis in testicular tissue and DNA fragmentation.

Key words: Cytogenetic. Impaired reproduction. Genetic counselling. Genetic studies. Recommendations.

Correspondencia: Dra. C. Alonso Cerezo.

Unidad de Genética Clínica.

Hospital Universitario de la Princesa.

Diego de León, 62. 28006 Madrid. España.

Correo electrónico: calonsoc.hlpr@salud.madrid.org

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 muchas causas de las alteraciones de fertilidad ahora se pueden determinar 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 de indicarse el estudio dependiendo de las características clínicas de la pareja, de la prevalencia y del 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 acerca de 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 con alteraciones de la reproducción. Se revisan las causas y se proporcionan las indicaciones de las pruebas genéticas.

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

Las parejas pueden haber tenido una evaluación previa endocrina, ginecológica, andrológica o por otros especialistas, para descartar otras causas. Se debe investigar en la historia clínica personal y familiar realizando 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, respetando 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 haber 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, las pruebas que se deberían de hacer siempre y cuyo resultado modifica el pronóstico de forma demostrada; recomendables, las pruebas cuyo resultado puede modificar el pronóstico aunque no se ha demostrado concluyentemente esta asociación, y optionales, las 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 basán-

TABLA 2. Antecedentes personales, familiares y exploración mínimos para el estudio de la pareja con alteraciones en la reproducción

Antecedentes personales en mujeres
Malformaciones en el nacimiento
Desarrollo psicomotor
Menarquia
Ciclos: duración y características
Antecedentes personales en varones
Malformaciones en el 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 de 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 congénitas, esterilidad, retraso mental o en el desarrollo, coagulopatías, enfermedades genéticas
Exploración en mujeres
Estatura
Aspecto fenotípico: obesidad, etc.
Distribución del cabello (occipital)
Cuello (tamaño, <i>pterigium</i>)
Tórax en escudo
Teletelia
Distribución del vello
Genitales externos
Exploración en varones
Estatura, especificando segmento superior/inferior
Aspecto fenotípico: eunucoides, 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)

dose en 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

TABLA 3. Clasificación en el uso de las recomendaciones

<i>Altamente recomendable.</i> Pruebas que se deberían hacer siempre cuyo resultado modifica el pronóstico de forma demostrada
<i>Recomendable.</i> Pruebas cuyo resultado puede modificar el pronóstico, aunque no se ha demostrado concluyentemente esta asociación
<i>Opcional.</i> Pruebas cuyo resultado no modifica el pronóstico de forma demostrada

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 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 reciprocas, translocaciones robertsonianas, inversiones o marcadores cromosómicos) pueden ocasionar 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, etc.)¹³, ante un fenotipo sugestivo de cromosomopatía¹³, cuando hay antecedentes de 2 o más abortos con la pareja actual o anteriores parejas^{11,14}, si hay antecedentes familiares de primer grado de cromosomopatías¹², o bien cuando haya 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 haya 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 someterse a técnicas de FIV¹⁵.

Fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad que se transmite de forma autosómica recesiva, causada por mutaciones en el gen *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulador*) (7q31.2). La prevalencia de afectados es de 1 cada 2.500 nacimientos y de heterocigotos de 1 cada 25¹⁶. El consorcio para el análisis genético de la FQ suministra la información sobre las mutaciones a través de Internet (<http://www.genetics.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

TABLA 4. Recomendaciones de estudio genético en la mujer**Cariotipo en sangre periférica****A. Altamente recomendable**

- Sospecha de reserva funcional ovárica inadecuada para la edad de la paciente: fallo ovárico oculto, amenorrea primaria, etc.
- Fenotipo sugestivo de cromosomopatía
- Dos 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

B. 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**A. Altamente recomendable**

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

B. Recomendable

- Consanguinidad

Estudio de X frágil**A. 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

B. 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 transmenbrane conductance regulador*; FIV: fecundación in vitro; ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides; MTHFR: metilentetrahidrofolato Reductasa.

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 dan lugar a la supresión de la transcripción del *FMR1* y a valores 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 presenta antecedentes familiares de retraso mental sin filiar.

Estudio de trombofilias

Las trombofilias, tanto heredadas como adquiridas, se han asociado con abortos recurrentes. El factor V de Leiden es inactivado a un ritmo aproximadamente 10 veces más lento que el factor V normal y persiste más tiempo en la circulación, provocando un incremento en la generación de trombina y un estado leve de hipercoagulabilidad. La mutación del factor V de 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 de Leiden puede realizarse mediante el estudio del test de cribado de coagulación de la resistencia a la proteína C reactiva.

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 reactiva, 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 costoso 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 hay una historia clínica personal o familiar de tromboembolismo venoso²⁴.

Un metaanálisis²⁵ ha demostrado que hay 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 valores normales de homocisteína, probablemente por el suplemento de folato en la dieta²⁶. El cribado de los

valores 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, constatando 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, mejorando 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 general. La frecuencia de cromosomopatías en la población general es inferior al 1%. En los varones infértiles 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 espermatogénesis 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 tiene una alteración cromosómica. A medida que progresla 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 alteraciones cromosómicas en uno u otro progenitor en las parejas con pérdida gestacio-

TABLA 5. Recomendaciones de estudios genéticos en el varón

Cariotipo en sangre periférica

- | |
|---|
| A. Altamente recomendable |
| – Fenotipo sugestivo de cromosomopatía |
| – Azoospermia u oligozoospermia severa |
| – 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 |
| B. 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

- | |
|--|
| A. Altamente recomendable |
| – Ausencia uni o bilateral de conductos deferentes |
| – Pareja portadora de mutación de la fibrosis quística |
| – Antecedentes familiares de fibrosis quística |
| B. Recomendable |
| – Azoospermia |
| – Consanguinidad |

Estudio de microdelecciones Y

- | |
|--|
| A. Altamente recomendable |
| – Azoospermia o recuento espermático < 1 millón/ml |
| B. Recomendable |
| – Recuento espermático < 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; MTHFR: metilentetrahidrofolato reductasa.

nal recurrente (2 abortos, o 1 aborto y 1 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 poscigóticas, 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 se suele interpretar 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 haya 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 obligado 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, haya 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 acerca de 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, o bien espontáneamente o bien por técnicas de reproducción asistida, debe de ofrecerse el consejo genético y el estudio prenatal mediante biopsia corial o amniocentesis.

Estudio molecular de 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), 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 varones estériles sin FQ³⁰.

Aproximadamente el 80% de los pacientes con CBAVD es portador de 2 mutaciones *CFTR*, es decir, heterocigotos compuestos. Los criterios de indicación de estudio molecular del gen *CFTR* son los siguientes: azoospermia; bajo volumen de líquido seminal ($< 2,0 \text{ ml}$); pruebas bioquímicas características ($\text{pH} < 7,2$, ausencia o disminución de fructosa y de alfa 1-4 glucosidasa); ausencia de vasos deferentes palpables; alteraciones en la ecografía transrectal. Los valores plasmáticos de hormona foliculostimulante (FSH), hormona luteinizante y los valores de testosterona son normales¹⁸.

Microdelecciones del cromosoma Y

Las alteraciones en la reproducción asociadas a microdelecciones del cromosoma Y pueden acompañarse de azoospermia, oligozoospermia severa de tipo secretor (FSH baja, menos de 1 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 criptorquidia, generalmente no presentan ninguna alteración en el fenotipo.

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

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

Se recomienda realizar estudio molecular de microdelecciones del Y en azoospermia y en oligospermia severa.

Hibridación fluorescente in situ (FISH) en espermatozoides

Las alteraciones en la reproducción masculina grave se asocian a la inadecuada recombinación meiótica y la elevación de aneuploidía en los cromosomas del espermatozoide, aumentando el riesgo de letalidad del embrión o de alteraciones fetales. Aunque todavía hay dificultades en la interpretación de los datos de aneuploidía, los avances en la hibridación fluorescente in situ 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 severa, como la azoospermia no obstructiva o con graves defectos estructurales, especialmente en casos de fracasos repetidos en la FIV o en la ICSI. 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 no disyunción de cromosomas homólogos y la producción de gametos aneuploidos.

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 infériles 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 1 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 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. Boletín Oficial Español. núm. 159. Miércoles 4 de julio de 2007.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co.; 2004. p. 195-155.
- 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 Cyto-généticiens 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, Vernaev 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;20:2899-903.
- 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.
- Garnett R J, Sutherland GR. Chromosome abnormalities and genetic counselling. 3rd ed. Oxford: 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, Bennett MJ, Edmonds DK, editors. Chromosomal abnormalities in spontaneous abortion: frequency, pathology and genetic, counselling. In: 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 DI, Gazvani MR, Mountford R. Cystic fibrosis in infertility: screening before assisted reproduction: opinion. *Hum Reprod.* 2000;15:2415-7.
- Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, 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 FRAXA premutation: positive correlation in a Brazilian survey. *Am J Med Genet.* 2004;126A(3):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, Siscovick 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.
- 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.
- Powers R, Dunbar M, Gallaher M, Roberts JM. The 677 C-T methenyltetrahydrofolate reductase mutation does not predict increased maternal homocysteine during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2003;101:762-6.
- Chandley AC. Chromosome anomalies and Y chromosome microdeletions as causal factors in male infertility. *Hum Reprod.* 1998;13 Suppl 1:45-50.
- 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.
- Egozcue 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.
- 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, Ballescà 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. Bhagat 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; 29:124-33.
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 Sup 1:S178-80.