

## DIAGNOSTICO DE LAS ALTERACIONES CITOGENETICAS EN LA INFERTILIDAD MASCULINA \*

C. Templado, M. Ponsá, S. Marina y J. Egozcue

Departamento de Biología Celular. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Facultad de Medicina. Instituto de Biología Fundamental y Fundación Puigvert. Universidad Autónoma de Barcelona. España.

### RESUMEN

Se han realizado estudios meióticos en 469 individuos que consultaron por esterilidad o infertilidad, de los cuales 313 lo fueron en biopsia testicular y 156 en semen. Las alteraciones observadas comprenden bloqueos de la espermatogénesis, anomalías detectables en células somáticas y anomalías limitadas a la línea germinal. Se discute la etiología de los nueve casos de *desinapsis* observados, y se propone una clasificación de los mismos. Finalmente, se discute la utilidad de las técnicas en semen y de los métodos de microscopía electrónica en el estudio del enfermo infértil.

La introducción de la citogenética en la sistemática de exploración del paciente infértil es relativamente reciente. Aun así, es precisamente en el terreno de la infertilidad donde esta especialidad ha encontrado una de sus aplicaciones más útiles, ya que, según los datos publicados hasta el momento a nivel mundial (Templado et al 1978 a) más de un 20 por ciento de los pacientes que son estudiados a causa de su infertilidad o esterilidad presentan algún tipo de anomalía cromosómica. Esta cifra puede desglosarse en los porcentajes siguientes: un 10 por ciento de los casos corresponde a anomalías cromosómicas de tipo estructural (translocaciones, inversiones, etc.); un 6-7 por ciento a casos de síndrome de Klinefelter o sus variantes; un 1-3 por ciento a alteraciones gonosómicas en mosaico; y un 2 por ciento a anomalías cromosómicas limitadas a la línea germinal, es decir, a anomalías exclusivamente meióticas.

De la clasificación anterior se desprende que las aberraciones cromosómicas que afectan a estos pacientes pueden dividirse en dos grandes grupos: anomalías que son detectables en células somáticas, y alteraciones identificables únicamente a través del estudio de la meiosis.

Aun siendo el primero de estos dos grupos, con mucho, el más numeroso, es el que menos problemas plantea desde el punto de vista diagnóstico, ya que existen generalmente indicios en la historia del enfermo (p. ej. abortos de repetición en las anomalías estructurales), o datos de exploración (microrquidia y azoospermia en el Klinefelter, estatura elevada y posibles problemas psicoseciales en el síndrome XYY, etc.) que orientan al clínico sobre la posible etiología del proceso, y le conducen a solicitar un estudio cromosómico.

Es pues el segundo grupo, formado por pacientes en los que puede no existir causa alguna aparente que justifique su infertilidad el que mayores problemas clínicos plantea y, por esta razón, en el que vamos a centrarnos al discutir los resultados obtenidos, que corresponden a una serie de 469 pacientes.

\* Presentado en el 1<sup>er</sup> Simposio de Andrología realizado en Lisboa, 1979.

## INDICACIONES

Las indicaciones para realizar un estudio meiótico pueden ser motivo de amplia discusión, ya que existen criterios muy dispares al respecto, y la información procedente de las distintas series publicadas no ha sido aun sistematizada. En nuestra experiencia consideramos que este tipo de estudio se halla indicado (1) en todo paciente que presente una anomalía cromosómica numérica o estructural en células somáticas, con el fin de determinar las posibilidades de producción de aberraciones cromosómicas derivadas; (2) en todo enfermo con una azoospermia no debida a un Klinefelter o variante o a una obstrucción, con una oligozoospermia real moderada o severa, una teratozoospermia o una polizoospermia; (3) en todo paciente al que, por otras razones, se le practique una biopsia testicular; (4) en todo enfermo con un bloqueo de la espermatogénesis a nivel de espermatocono primario o más allá, para el estudio del apareamiento cromosómico al microscopio electrónico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado estudios meióticos en 469 enfermos que consultaron por infertilidad o esterilidad, procedentes del Departamento de Andrología de la Fundación Puigvert. El material utilizado fue una biopsia testicular en 313 casos, y el eyaculado en 156 casos. Las preparaciones cromosómicas se realizaron de forma estándar, siguiendo las técnicas descritas por Evans et al (1964) para las biopsias de testículo y por Sperling y Kaden (1971) para el eyaculado.

## RESULTADOS

Los datos obtenidos del estudio meiótico de estos pacientes pueden ser de tres tipos, que no siempre son excluyentes entre sí.

### 1. Meiosis normal

2. Bloqueo de la espermatogénesis (con meiosis normal o anormal), siendo los más frecuentes los que se producen a nivel de espermatocono primario o de espermátide

3. Presencia de anomalías cromosómicas específicas, que pueden corresponder a tres grupos:

a) Anomalías de la configuración de los bivalentes, secundarias a una alteración numérica o estructural. En nuestra serie se han observado 30 casos, correspondientes a ocho inversiones pericéntricas, 20 translocaciones y dos casos de fragilidad centromérica. Dado que estas anomalías son detectables en células somáticas, no entraremos en su discusión.

b) Anomalías ocasionales, como la pulverización cromosómica, la formación de micronúcleos o la presencia de bivalentes entrelazados. Estas alteraciones son poco frecuentes, y su importancia etiopatogénica posiblemente nula.

c) Anomalías del apareamiento o sinapsis de los cromosomas homólogos. En nuestra serie se han detectado ocho casos de desinapsis, y está en estudio un posible caso más, lo que da una incidencia de esta anomalía del 1.70 por ciento al 1.91 por ciento (Fig. 1).

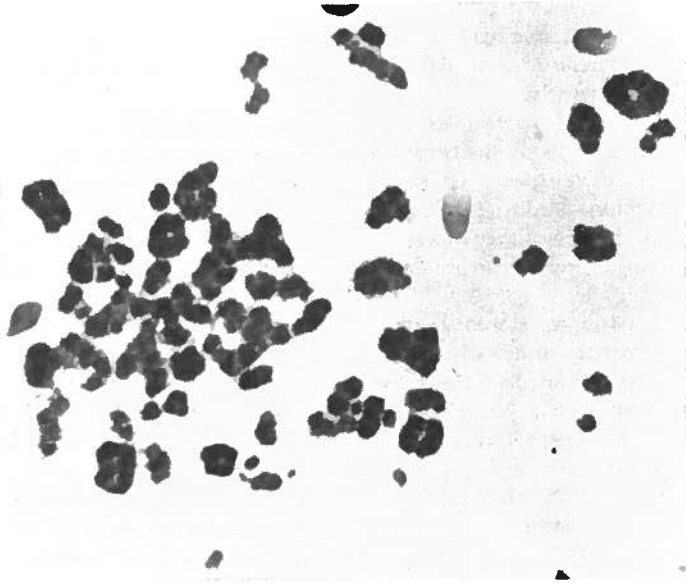


Fig. 1 — *Desinapsis con fragmentación cromosómica. Preparación de semen. Obsérvese el escaso número de quiasmas y la marcada fragmentación de los bivalentes*

## DISCUSIÓN

El estudio de la meiosis plantea problemas técnicos y humanos que, probablemente, han sido la causa de que su empleo se haya visto gravemente limitado (Templado et al 1977). Además de la necesidad de obtener una biopsia testicular, el análisis de la meiosis exige disponer de personal con una profunda formación en genética y citogenética, ya que la interpretación de las imágenes obtenidas no siempre resulta fácil. Sin embargo, muchos de estos problemas han sido resueltos gracias a los avances técnicos de los últimos años, y en especial al hacerse posible realizar estos estudios en el eyaculado (Sperling y Kaden 1971), técnica que ha sido ampliamente utilizada en nuestro laboratorio (Templado et al 1976, 1977, 1978 a, 1978 b) y que, por desgracia, no ha tenido la acogida que se merece a nivel mundial.

Las imágenes obtenidas en las preparaciones de semen son siempre de menor calidad que las procedentes de una biopsia testicular (Fig. 2), aunque en algunos casos resultan excelentes (Fig. 1). Aun así, aunque las figuras obtenidas no permitan un análisis fino de los bivalentes, sí resulta posible determinar la presencia o ausencia de alteraciones, y, en su caso, establecer una indicación de biopsia testicular. Además, en los pacientes con problemas de infertilidad la descamación de células de espermatogénesis es siempre mayor que en los individuos normales, y aumenta considerablemente si se le indica al paciente que durante uno o dos días antes de la recogida de la muestra tenga la mayor actividad sexual posible, con lo que, al mismo tiempo, disminuye el número de espermatozoides presentes en la muestra, que podrían dificultar el estudio de las figuras de división.

Entre las anomalías detectadas en nuestra serie, las de mayor importancia son las que afectan a la sinapsis de los cromosomas, ya que no son detectables más que a través del estudio de la meiosis, y pueden considerarse como causa directa de la infertilidad o esterilidad del paciente.

La alteración del apareamiento cromosómico da lugar a una disminución muy considerable del número de quiasmas que, a su vez, provoca una separación precoz de los bivalentes en univalentes y, en consecuencia, una distribución anárquica del material genético en anafase, produciéndose así gametos desequilibrados, o una detención del proceso meiótico. Los casos más espectaculares son los que se acompañan de una fragmentación cromosómica, probablemente debida a un déficit de la síntesis reparadora de DNA en profase I (Fig. 1).

En estos pacientes, tanto la exploración física como los datos de laboratorio pueden ser totalmente normales, por lo que plantean un grave problema diagnóstico, que tan sólo se solucionará mediante el estudio de la meiosis. Sin embargo, pueden también presentar una azoospermia por bloqueo de la espermatogénesis en meiosis I, una oligozoospermia por bloqueo parcial, o una teratozoospermia debida a la anormal distribución del material genético.

Desde el punto de vista etiológico, estos pacientes pueden corresponder a cinco entidades, revisando nuestra clasificación anterior (Templado et al 1978 b):

1) Asinapsis. Se trata de un proceso de origen genético, transmitido probablemente de forma recesiva y, por tanto, heredable y familiar. Existe un sólo caso descrito en la literatura (Hultén et al 1974).

Desde el punto de vista citológico se caracteriza por la presencia de alteraciones del apareamiento cromosómico en todas las fases de la meiosis I, ausencia de vesícula sexual en los espermatoцитos primarios como resultado de anomalías de apareamiento de los cromosomas sexuales, complejos sinaptonémicos incompletos y anormales, y una imagen típica en metafase I, con bivalentes elongados, desespirilizados y con un escaso

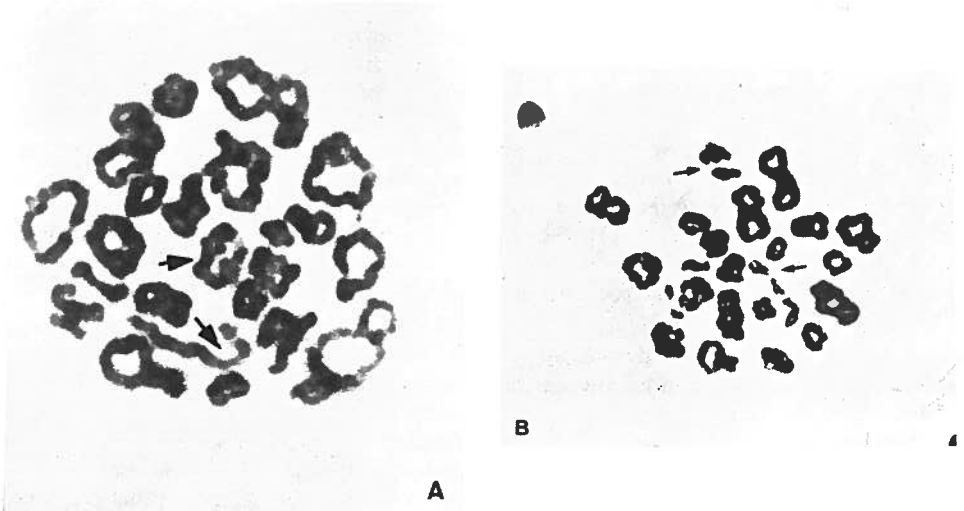


Fig. 2 — A. Metafase I en biopsia testicular; la flecha superior señala al bivalente n.º 9; la flecha inferior al bivalente sexual. B. Metafase I en semen; la flecha superior señala al bivalente n.º 9; la flecha inferior al bivalente sexual. Las preparaciones de semen son casi siempre de inferior calidad, pero en algunos casos son comparables a las preparaciones de biopsia testicular

número de quiasmas. La asinapsis provoca un bloqueo de la espermatogénesis en meiosis I y, en consecuencia, da lugar a una esterilidad.

2) Desinapsis sin fragmentación cromosómica. Probablemente debida a una alteración de los mecanismos de regulación del proceso meiótico, que provoca la desespiralización de los bivalentes en profase I, entre paquitene y diacinesis, alterando así su apareamiento. La imagen citológica es parecida a la anterior, pero el apareamiento de los cromosomas es normal hasta paquitene y los espermatocitos primarios poseen vesícula sexual.

Dentro de este grupo podrían existir dos entidades distintas, ya que ciertos pacientes presentan un bloqueo de la espermatogénesis en meiosis I y la consiguiente esterilidad, mientras que otros llegan a producir espermatozoides, lógicamente desequilibrados, y son, en consecuencia, infértiles.

3) Desinapsis con fragmentación cromosómica. Probablemente debida a una falta de síntesis de reparación del DNA después de producirse las roturas cromosómicas necesarias para el intercambio de material genético en profase I. El apareamiento es normal hasta paquitene, y los espermatocitos primarios poseen vesícula sexual. En metafase I los cromosomas presentan un aspecto desespiralizado y muy fragmentado. Aún así, no se produce un bloqueo de la meiosis, por lo que el paciente presenta espermatozoides anormales y la consiguiente infertilidad.

4) Desinapsis parcial. Proceso difícil de interpretar, ya que los enfermos presentan una cierta proporción de células, generalmente inferior al 20 %, con una desinapsis sin fragmentación típica, siendo el 80 % restante normal. Por el momento resulta imposible determinar si la infertilidad se debe o no a la desinapsis, aunque ello sea poco probable.



Fig. 3 — Complejo sinaptonómico de dos bivalentes de hamster sirio (*Misocricetus auratus*) al microscopio electrónico. El cinetocoro (flechas grandes) y los telómeros (flechas pequeñas) son perfectamente visibles

5) Desinapsis individual. Se conoce un sólo caso, estudiado en nuestro laboratorio (Templado et al en preparación). El cuadro es en todo idéntico a la desinapsis sin fragmentación, pero afectando tan sólo a dos bivalentes, y siendo los demás normales. La espermatogénesis es completa.

La utilidad práctica del estudio de la meiosis ha aumentado considerablemente desde la puesta a punto de la técnica de Sperling y Kaden (1971) para la obtención de preparaciones cromosómicas a partir del eyaculado, que hace posible repetir el estudio siempre que sea necesario, e incluso realizar estudios seriados para el control de la terapéutica instituída.

Otro avance a destacar es la posibilidad de estudiar el apareamiento meiótico a través de los complejos sinaptonémicos en montajes completos de espermatocitos primarios para microscopía electrónica (Fig. 3). La utilidad práctica de este tipo de estudio puede preverse a dos niveles. En primer lugar, para la detección de pequeñas irregularidades de apareamiento, no visualizables en fases más avanzadas de la división debido a la gran condensación de los bivalentes. En segundo lugar, para el estudio de la etiología de los casos de asinapsis y desinapsis, y muy especialmente de los bloqueos a nivel de espermatocito primario, que constituyen un grave problema para el especialista en fertilidad masculina.

## SUMMARY

### DIAGNOSIS OF THE CYTOGENETICAL DISORDERS IN MALE INFERTILITY

Four hundred and sixty nine patients who sought medical advice owing to sterility or infertility have been subjected to study of the meiosis by means of semen examination (156) or testicular biopsy (313). The observed alterations comprise blockade of the spermatogenesis, deficiency of the somatic cells and anomalies restricted to the germinal cell epithelium. The aetiology of the nine observed cases of *desynapsis* is discussed and a classification for them is put forward. Finally, the usefulness of the semen technics and the role of electron microscopy in the evaluation of the sterile patient is taken into account.

## BIBLIOGRAFIA

- EVANS EP, BRECKON G, FORD CE: An air-drying method for meiotic preparations from mammalian testes. *Cytogenet* 3: 289, 1964.
- HULTEN M, SOLARI AJ, SKAKKEBAEK NE: Abnormal synaptonemal complex in an oligo-chiasmatic man with spermatogenic arrest. *Hereditas* 78: 105, 1974.
- SPERLING K, KADEN R: Meiotic studies of the ejaculated seminal fluid of humans with normal sperm count and oligospermia. *Nature* 232: 481, 1971.
- TEMPLADO C, MARINA S, EGOZCUE J: Three cases of low chiasma frequency associated with infertility in man. *Andrologia* 8: 285, 1976.
- TEMPLADO C, MARINA S, EGOZCUE J: Anomalías cromosómicas en la esterilidad e infertilidad masculina. En: Avances en Obstetricia y Ginecología. Gonzalez-Merlo J, Burzaco I Eds. Salvat, Barcelona, 1977.
- TEMPLADO C, MARINA S, EGOZCUE J: Meiotic studies in infertile and sterile males. *Intl J Androl* 1 (Supl. 1): 155, 1978 a.
- TEMPLADO C, MARINA S, SUAREZ CANAL F, GIL-VERNET E, IZQUIERDO L, EGOZCUE J: Four cases of low chiasma frequency diagnosed in semen. *Intl J Androl* 1: 153, 1978 b.

Pedido de separatas: J. Egozcue

Facultad de Ciencias  
UAB  
Bellaterra. Barcelona  
España