

Azoospermia no obstructiva por microdelección combinada AZFb/c

Non-Obstructive Azoospermia Due to AZFb/c Combined Microdeletion

Elyen Vital Riquenes^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-9704-7419>

Gilda Monteagudo Peña² <https://orcid.org/0000-0002-3815-0675>

Marileivis García Heredia³ <https://orcid.org/0000-0002-1796-5824>

Geidy Vega Robaina⁴ <https://orcid.org/0000-0001-8073-0721>

¹Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

²Instituto Nacional de Endocrinología. La Habana, Cuba.

³Hospital Ramón González Coro. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: elyenvr@infomed.sld.cu

RESUMEN

La azoospermia como forma clínica severa de infertilidad masculina, tiene entre sus causas genéticas las cromosopatías y las microdeleciones del cromosoma Yq, principalmente en la azoospermia no obstructiva. Con el objetivo de describir las características clínicas y genéticas de la microdelección del cromosoma Yq, se presenta el caso de un paciente con infertilidad primaria idiopática desde hace aproximadamente un año. Clínicamente se caracterizó por presentar disminución del volumen testicular bilateral, oligozoospermia severa y luego azoospermia no obstructiva, aumento de los niveles de FSH y LH con testosterona normal. De las investigaciones genéticas: cariotipo 46,XY y microdelección completa combinada de la región AZFb/c. La microdelección del cromosoma Yq como causa de fallo severo de la espermatogénesis, respalda la importancia de la valoración por el Servicio de Genética Clínica y la realización del estudio molecular de la región AZF. Lo que permitirá ofrecer un adecuado asesoramiento genético y reproductivo.

Palabras clave: azoospermia; cromosoma Y; espermatogénesis; infertilidad masculina.

ABSTRACT

Azoospermia as a severe clinical form of male infertility, and it has among its genetic causes chromosopathies and microdeletions of the Yq chromosome, mainly in non-obstructive azoospermia. In order to describe the clinical and genetic characteristics of the Yq chromosome microdeletion, the case of a patient with idiopathic primary infertility for about a year is presented. The patients was clinically characterized by decreased bilateral testicular volume, severe oligozoospermia and then non-obstructive azoospermia, increased levels of FSH and LH with normal testosterone. From genetic investigations: karyotype 46,XY and combined complete microdeletion of the AZFb/c region. The microdeletion of the Yq chromosome, as a cause of severe failure of spermatogenesis, supports the importance of the assessment by the Clinical Genetics Service and the molecular study of the AZF region. This will allow to offer adequate genetic and reproductive counseling.

Keywords: azoospermia; Y chromosome; spermatogenesis; male infertility.

Recibido: 14/12/2022, **Aprobado:** 16/02/2023

Introducción

La azoospermia constituye el fenotipo severo de infertilidad masculina y afecta entre el 10–15 % de los hombres infértiles, 2/3 de estos últimos se asocia con un espectro de desórdenes testiculares intratables, por lo que ha sido reconocido como la forma severa de presentación de la infertilidad en el hombre.⁽¹⁾

La azoospermia se divide en dos grandes categorías:

1. la azoospermia obstructiva (AO) en el cual el tracto genital se encuentra obstruido y bloquea el paso del espermatozoide
2. la azoospermia no obstructiva (ANO) caracterizada por un fallo testicular en la producción de espermatozoides maduros. Aunque algunos reportes indican una alta incidencia de ANO en relación a AO (60 vs. 40 %) y (85,2 vs. 12,9 %), otros artículos reportan cifras contrarias.⁽²⁾

Los hombres con azoospermia no obstructiva, a pesar de ser invariablemente infértiles, no necesariamente tienen imposibilidad de lograr un embarazo. La evaluación directa de biopsias testiculares ha mostrado áreas focales de espermatogénesis en un 30 % – 60 % de estos pacientes a pesar del fallo severo de esta. Al producirse pocos espermatozoides, es difícil observar en el eyaculado; sin embargo, es posible recuperar del testículo y ser utilizado en técnicas de reproducción asistida (TRA) como es la inyección intracitoplasmática (ICSI).⁽³⁾

Las causas genéticas son las que con mayor frecuencia pudieran encontrarse en la mayoría de los casos de azoospermia no obstructiva, principalmente las anomalías cromosómicas seguidas por las microdeleciones del cromosoma Y,⁽⁴⁾ que tienen un rol fundamental en el desarrollo y maduración de los gametos masculinos y la espermatogénesis. A nivel mundial se estima una alta incidencia de azoospermia con relación a oligozoospermia y una frecuencia de ocurrencia de las microdeleciones en la región de azoospermia que varía entre el 2 % y el 10 % entre las distintas poblaciones estudiadas.⁽⁵⁾

Desde el año 2018, Cuba dispone del diagnóstico molecular de las microdeleciones del cromosoma Y en el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) y ha estimado una frecuencia de distribución del 2,8 %, similar a lo reportado en poblaciones con diferentes orígenes geográficos y étnicos. El patrón de deleción más frecuente fue de la región C del factor de azoospermia (delAZFc).⁽⁶⁾ Esta publicación tiene como objetivo describir las características clínicas y genéticas de un caso poco frecuente de microdeleción completa combinada de la región AZFb y AZFc (AZF b/c) por la importancia que se le confiere divulgar resultados científicos que ayuden a enriquecer el conocimiento de la comunidad científica, sobre todo a los que se dedican a la salud reproductiva y así ofrecer un asesoramiento genético y reproductivo adecuado.

Presentación del caso

Paciente de 36 años de edad, mestizo, procedente de la región oriental de Cuba e historia de infertilidad primaria con factor masculino severo desde hace aproximadamente un año. Fue atendido por el servicio de endocrinología de su provincia con el diagnóstico de azoospermia no obstructiva idiopática, tratado

con gonadotropina coriónica humana (GCH), sin respuesta al tratamiento. Luego fue atendido en las consultas de Infertilidad y Genética Clínica del Instituto Nacional de Endocrinología (INEN).

Durante la confección de la historia clínica genética, se recogió el antecedente de varicocele grado I unilateral izquierdo. Al interrogatorio se descartaron otros antecedentes de interés como historias de cirugías pélvicas, inguinal o escrotal, así como algún compromiso potencial de la vascularización testicular y la función eyaculatoria. De igual forma, se descartaron antecedentes como la exposición a agentes físicos, químicos, hábitos tóxicos y el uso habitual de medicamentos. Como antecedentes patológicos familiares, padres hipertensos y se descartaron otras enfermedades crónicas y genéticas, así como historia de infertilidad u otras patologías de interés en otros miembros de la familia ([figura 1](#)). Al examen físico sólo se constató disminución del volumen testicular bilateral.

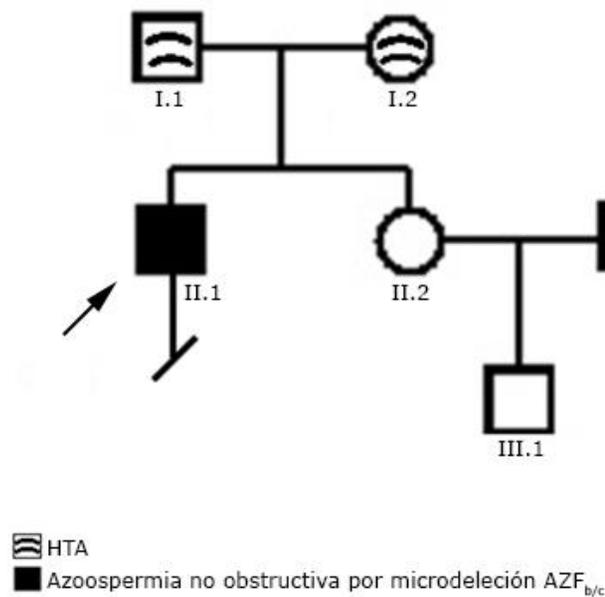


Fig. 1- Árbol genealógico.

Se le realizaron dos espermogramas según los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud (OMS). En el primero de ellos se constató una oligozoospermia severa con una concentración espermática de 3×10^6 /ml y en el segundo realizado a los 73 días de diferencia aproximadamente, no se observaron espermatozoides, estableciéndose una azoospermia. Los estudios hormonales mostraron la hormona folículo estimulante (FSH) en 25,9 UI/L (VR: 1-10.5 UI/L), la hormona leutinizante (LH) en 14.0 UI/L (VR: 1.9-9.4UI/L) y testosterona en 5.9nmol/L(VR:5.6-30.8nmol/L). Del estudio citogenético se obtuvo, cariotipo normal 46,XY (350 bandas en 10 metafases). Del estudio molecular se detectó microdelección completa combinada de la región de AZFb y AZFc (del AZFb/c) y presencia de la región AZFa ([Figura 2](#)). Este último estudio se realizó por la técnica de STS-PCR Multiplex según lo recomendado

por la Academia Europea de Andrología (EAA) y la Red Europea de Calidad en Genética Molecular (EMQN), adaptado a las condiciones del laboratorio de biología molecular del CNGM.⁽⁷⁾

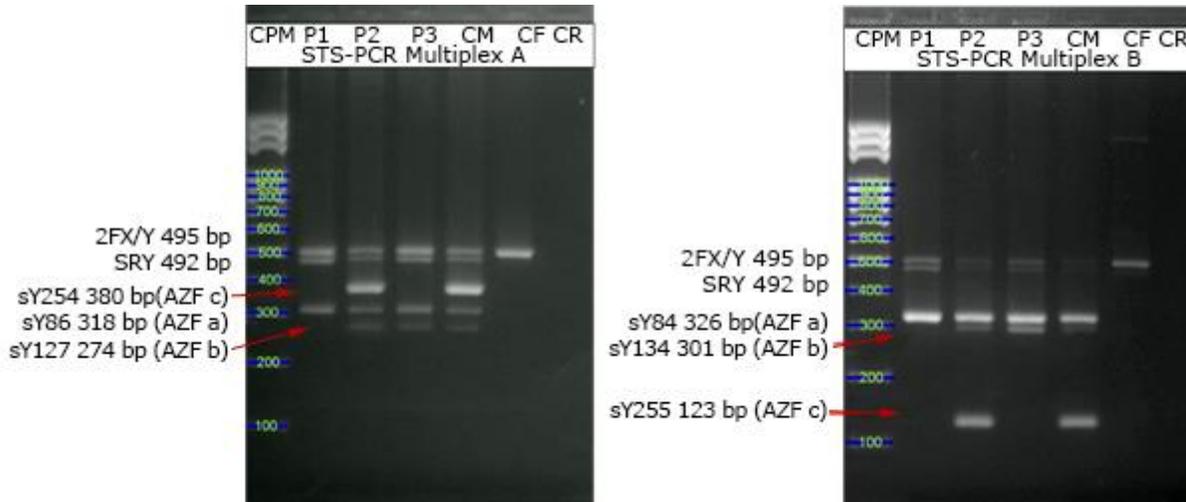


Fig. 2- Corrida electroforética en gel de agarosa 2% donde se identifica la delección completa de la región AZFb/c, con ausencia de sY254 y sY255, y sY127y sY134 CPM (marcador de 100pb), P1 (paciente con delección completa AZFb/c), P2 (paciente sin delección AZF), P3 (control positivo con delección completa AZFc), CM (control masculino sano), F (control femenino) CR (control de reacción).

Una vez concluida la historia clínica, en el que se analizaron de forma integral los antecedentes personales y familiares, así como los principales hallazgos clínicos y de laboratorio, se estableció el diagnóstico de infertilidad masculina primaria por azoospermia no obstructiva por microdelección completa combinada AZFb/c, anteriormente diagnosticado y seguido como infertilidad primaria idiopática por azoospermia no obstructiva. Se brindó asesoramiento genético y actualmente se mantiene con parámetros clínicos y de laboratorio sin modificación, en espera de ser valorado por la consulta territorial de Reproducción Asistida.

Se cumplió con el proceso de consentimiento informado y se respetó la autonomía del paciente en la toma de decisión para la publicación del caso. Además, se protegió confidencialmente la información, respetando el principio de no maleficencia. Se contó además con la aprobación del Comité de Ética y el Consejo Científico del Centro Nacional de Genética Médica.

Discusión

En 1976 se describió por primera vez la delección de determinadas regiones en el cromosoma Y en varones infértiles. No fue hasta 1995 que tuvo lugar la caracterización definitiva de tres regiones diferenciadas (denominadas a, b y c). En 1997 se describieron unidades de transcripción que tendrían

una función crítica en la espermatogénesis, en el que se vincularon las regiones AZF al proceso de espermatogénesis. Desde entonces, han sido publicadas varias series de casos de microdelección del cromosoma Y,⁽⁸⁾ como la causa genética más frecuente de infertilidad en el hombre con excepción de las cromosomopatías específicamente el Síndrome de Klinefelter.

La piedra angular en la evaluación del hombre infértil es el análisis del semen (espermograma)⁽⁹⁾ y la expresión fenotípica que caracteriza los diferentes patrones de microdelección de la región de azoospermia, abarca desde la oligozoospermia severa a la azoospermia, como es el caso que se presente en este artículo. Anteriormente se había hecho referencia al predominio de los pacientes azoospermicos en relación a los oligozoospermicos severos con esta condición genética y así lo demuestra la literatura.

Punab y otros⁽¹⁰⁾ estudiaron 1 737 pacientes con disminución del conteo espermático con el propósito de determinar la causa de la infertilidad, al 2,3 % de estos pacientes se le diagnosticó microdelección de la región AZF, de ellos el 6,4 % eran azoospermicos y el 0,6 % oligozoospermicos severos.

En un estudio realizado en la India por *Prafulla Ambulkar* y otros,⁽¹¹⁾ de 160 pacientes con azoospermia no obstructiva idiopática, se le realizó estudio molecular para microdeleciones del cromosoma Y al 92,5 %, identificándose en 19 casos (12,8 %) deleción en diferentes regiones AZF, y dos de ellos (1,5 %), mostraron deleción combinada de las regiones AZFb y AZFc, como el caso que se presenta en este artículo, correspondiéndose a un patrón de deleción poco frecuente, al contrario de la deleción AZFc (~ 80 %), seguido por el de las regiones AZFb (1 – 5 %), AZFa (0,5 – 4 %) y AZFb/c (1 – 3 %).⁽¹²⁾

Clínicamente el denominador común de la deleción de cualquiera de estas 3 regiones o sus combinaciones son la infertilidad primaria con azoospermia u oligozoospermia severa ($< 5 \times 10^6/\text{mL}$) en ausencia de trastornos de la virilización, descenso del volumen testicular y la elevación en los niveles de FSH,⁽¹³⁾ elementos clínicos que se describieron en el caso clínico que se presenta.

Estos resultados se sustentan fisiopatológicamente, en la constitución genética del cromosoma Y que, además de contener los factores que controlan la diferenciación y la maduración testicular, en él se encuentra el *cluster* de genes localizados en la porción Yq11, involucrados en el complejo proceso de la espermatogénesis. La región AZFb tiene una extensión de aproximadamente 3.2 Mb en la parte media del Yq11 e incluye dos genes importantes: RBMY (*RNA binding motifon Y*) y EIF1AY (*eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked*), indispensables para la fertilidad del hombre. El gen RBMY funciona como el segundo gen responsable de la azoospermia, aproximadamente de 15 a 30 copias de este gen están dispersos en esta región, su deleción incluye como mínimo la pérdida de una copia funcional del gen RBMY y, por lo tanto, un fallo de la espermatogénesis. La región AZFc es la más estudiada y abarca alrededor de 3.5Mb en la porción distal del Yq11 que incluye 12 genes y unidades de transcripción, cada una presente en un número variable de copias que hacen un total de 32 copias. Los genes candidatos de importancia en este intervalo son: 4 copias del gen DAZ (deleción en casos con azoospermia), 3 copias del gen BPY2 (*basic protein on Y chromosome 2*) y dos copias del gen CDY1 (*CDY1a and CDY1b; chromo domain protein, Y chromosome 1*). La mayoría de las microdeleciones ocurren de novo en la parte distal de las regiones AZFb y AZFc, lo que genera patrones diferentes de infertilidad masculina, desde

oligozoospermia severa hasta la azoospermia no obstructiva, asociada a la falla espermatogénica. Se ha encontrado que las deleciones en la región AZFb están asociada con azoospermia y oligozoospermia, mientras que la región AZFc se asocia con azoospermia y oligozoospermia severa a leve.⁽¹¹⁾ Si la región afectada es la AZFb/c histológicamente se correlaciona con el síndrome de solo células de Sertoli (SCOS) o arresto espermatogénico y clínicamente con una azoospermia.^(5, 14)

Los trastornos hormonales también caracterizan a los pacientes con factor masculino severo. Además de la espermatogénesis, el testículo tiene función hormonal. Las células de Leydig producen testosterona de forma pulsátil y responden a la acción de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona leutinizante (LH). *Lardone*⁽¹⁵⁾ refiere que "Es bien reconocido que el daño severo de la espermatogénesis está fuertemente asociado con elevación de los niveles plasmáticos de FSH...y la disfunción de las células de Leydig se caracteriza por bajos niveles de testosterona e incremento de la LH." En la literatura son muchos los estudios que demuestran esta asociación, lo que coincide con el caso que se presenta, que además del incremento de los valores de FSH y LH, se encontraron niveles normales de testosterona, pero en el rango inferior. *Chellat* y otros⁽¹⁶⁾ reportaron el hallazgo de cifras elevadas de FSH más significativas en pacientes azoospermicos que en los oligozoospermicos de su investigación, aunque los niveles de LH, testosterona y prolactina en ambos grupos de pacientes se encontraron en rangos normales.

La microdelección de la región de azoospermia, al ser causa de factor masculino severo, es un diagnóstico a tener presente al estudiar pacientes con estos perfiles hormonales, aunque pacientes con niveles hormonales normales, pueden ser portadores de la microdelección de la región AZF y viceversa, como lo observado por *Zhang* y otros,⁽¹⁷⁾ donde el 73 % (11/15) de sus pacientes con microdelección AZFb y el 39 % (30/77) de sus pacientes con la microdelección AZFc mostraron niveles séricos normales de FSH. Es por esto que el estudio hormonal no debe considerarse, como un solo indicador de microdelección de la región AZF, ni debe ser utilizado para predecir pronóstico, ante un hallazgo como este, y así lo reafirma *Lardone*⁽¹⁵⁾ "...sin embargo hay una gran proporción de hombres infértiles con niveles de FSH en el rango normal, de igual forma los niveles plasmáticos de testosterona muestran un gran solapamiento entre hombre fértiles e infértiles."

El examen físico de los genitales, específicamente el volumen y consistencia de los testes orientan hacia un posible fallo de la espermatogénesis ya que están constituidos en su mayor parte por los túbulos seminíferos, que se contraen o se ausentan, dándole a los testes una apariencia atrófica. Los testes de un paciente con azoospermia no obstructiva tienen típicamente un volumen menor de 15ml.⁽¹⁷⁾ *Zhang* y otros,⁽¹⁷⁾ en un estudio realizado en el 2013 analizaron las características clínicas en pacientes con azoospermia y oligozoospermia severa con microdelección del cromosoma Y, observaron diferencias según el patrón de microdelección: aquellos con deleción AZFa tenían un volumen testicular de 10 a 11ml, inferior a lo normal; los que presentaron deleción AZFb se encontraban en el rango normal y con deleción AZFc el volumen testicular era significativamente menor que controles fértiles y que los pacientes con deleción AZFb. En el caso que se presenta en este artículo, con un patrón de deleción combinada AZFb/c predomina la disminución del volumen testicular, lo que es de esperar por el mayor compromiso génico

y daño severo de la espermatogénesis. La literatura refiere que el 85 % del volumen de los testes está asociado con la producción de espermatozoides y su disminución es indicativa de un fallo potencial de la espermatogénesis. Los testes de un hombre adulto miden al menos 4,6cm de largo y 2,6cm de ancho, para un volumen testicular en el rango de 18 a 20 ml.⁽¹⁸⁾

Conclusiones

La microdelección del cromosoma Y como causa de fallo severo de la espermatogénesis, en especial en pacientes con azoospermia no obstructiva, que además se acompañen de disminución del volumen testicular, niveles bajos de testosterona así como FSH y LH elevada o normal, respalda la importancia de la valoración por el Servicio de Genética Clínica y la realización del estudio molecular de la región AZF. Lo que permitirá ofrecer un adecuado asesoramiento genético y reproductivo.

Referencias bibliográficas

1. Corona G, Minhas S, Giwercman A, Bettocchi C, Dinkelman-Smit M, Dohle G, *et al.* Sperm recovery and ICSI outcomes in men with non-obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2019; pp. 1–25. DOI: [10.1093/humupd/dmz028](https://doi.org/10.1093/humupd/dmz028)
2. Witherspoon L, Flannigan R. Meiotic arrest in azoospermicmen: current implications of a recently reported novel technique for classification of arrest stage. *Fertil Steril*. 2019;112(6):1044-5. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2019.09.044](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.09.044)
3. Gnessi L, Scarselli F, Giulia MM, Mariani S, Lubrano C, Basciani S, *et al.* Testicular histopathology, semen analysis and FSH, predictive value of sperm retrieval: supportive counseling in case of reoperation after testicular sperm extraction (TESE). *BMC Urology*. 2018;18(1):63. DOI: [10.1186/s12894-018-0379-7](https://doi.org/10.1186/s12894-018-0379-7)
4. Beg MA, Nieschlag E, Abdel-Meguid TA, Alam Q, Abdelsalam A, Haque A, Mosli HA, *et al.* Genetic investigations on causes of male infertility in Western Saudi Arabia. *Andrologia*. 2019; e13272. DOI: [10.1111/and.13272](https://doi.org/10.1111/and.13272)
5. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014; 2(1):5-19. DOI: [10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x](https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x)
6. Vital E, Marcheco B, Collazo T, Monteagudo G, García M. Frecuencia de microdeleciones del cromosoma Y en pacientes cubanos con azoospermia u oligozoospermia idiopática. *Rev Cuba Gen*. 2020[acceso 13/05/2021];13(1):1-11. Disponible en: <http://revgenetica.sld.cu/index.php/gen/article/view/103/156>
7. Vital E, Marcheco B, Collazo T, Monteagudo G, García M. Introducción del estudio molecular de la microdelección del cromosoma Yq en hombres cubanos con azoospermia u oligozoospermia idiopática. *Rev Cuba Gen*. 2017;11(3):32-7. Disponible en: <http://revgenetica.sld.cu/index.php/gen/article/view/45/74>
8. Özdemir TR, Özyılmaz B, Çakmak Ö, Özer KÖ, Can Köse Ö, Kırbıyık Ö, *et al.* Evaluation of chromosomal abnormalities and Y-chromosome microdeletions in 1696 Turkish cases with primary male infertility: A single-center study. *Turk J Urol*. 2020;46(2):95–100. DOI: [10.5152/tud.2019.19156](https://doi.org/10.5152/tud.2019.19156)

9. Philipraj J, Rams K. Male infertility, current concepts and advances in evaluation and management, a review. *J Urol Nephrol*. 2018 [acceso 20/04/2020];3(3):000145. Disponible en: <https://medwinpublishers.com/OAJUN/OAJUN16000145.pdf>
10. Punab M, Paju P, Vihljajev V, Pomm K, Poolamets O, Ladva R, *et al*. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm. *Human Reproduction*. 2017;32(1):18–31. DOI: [10.1093/humrep/dew284](https://doi.org/10.1093/humrep/dew284)
11. Ambulkar P, Chuadhary A, Waghmare J, Tarnekar A, Pal A. Prevalence of Y chromosome microdeletions in idiopathic azoospermia cases in central indian men. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015;9(9):GC01-GC04. DOI: [10.7860/JCDR/2015/15249.6515](https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/15249.6515)
12. Liu T, Song YX, Jiang YM. Early detection of Y chromosome microdeletions in infertile men is helpful to guide clinical reproductive treatments in southwest of China. *Medicine*. 2019;98(5):e14350. DOI: [10.1097/MD.00000000000014350](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014350)
13. 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. DOI: [10.1210/JC.2002-020737](https://doi.org/10.1210/JC.2002-020737)
14. Tahmasbpour E, Balasubramanian D, Agarwal A. A multi faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). *J Assist Reprod Genet*. 2014;31:1115-37. DOI: [10.1007/s10815-014-0280-6](https://doi.org/10.1007/s10815-014-0280-6)
15. Lardone MC, Piottante A, Valdevenito R, Ebersperger M, Castro A. Histological and hormonal testicular function in oligo/azoospermic infertile men. *Andrologia*. 2013;45:379–85. DOI: [10.1111/and.1202](https://doi.org/10.1111/and.1202)
16. Challat D, Rezgounne ML, McElreavey K. First study of microdeletions in the Y chromosome of Algerian infertile men with idiopathic oligo or azoospermia. *Urol Int*. 2013;(90):p.455-9. DOI: [10.1159/000347046](https://doi.org/10.1159/000347046)
17. Zhang F, Li L, Whang 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. DOI: [10.1002/mrd.22226](https://doi.org/10.1002/mrd.22226)
18. Manuel BA, Ugboma EW, Nwankwo NC. Relationship between Testicular Volume and Sperm Count in Infertile Men in Southern Nigeria. *AJMAH*. 2017;4(1):1-6. DOI: [10.9734/AJMAH/2017/29182](https://doi.org/10.9734/AJMAH/2017/29182)

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.