

Espermatogénesis e Infertilidad

Dr Lluís Bassas

La capacidad reproductiva del hombre adulto está condicionada por el esencial proceso de la espermatogénesis. La producción continuada de un número adecuado de gametos masculinos funcionalmente competentes depende de múltiples factores, y su disrupción parcial o total representa la mayor parte (alrededor del 80%) de las causas de subfertilidad o esterilidad masculina [Serio, 1997].

Esquemáticamente, la espermatogénesis puede dividirse en tres grandes fases:

a) Multiplicación y renovación por mitosis de las células germinales primordiales, las espermatogonias.

b) Meiosis, que reduce la dotación cromosómica a la mitad, para dar lugar a células haploides. Se inicia con la duplicación y recombinación del material genético paterno y materno de los espermatozoides primarios, continua con una división mitótica que origina espermatozoides secundarios, y finaliza con una nueva división para formar espermátides redondas.

c) Diferenciación y maduración de las espermátides, para originar gametos masculinos, en un proceso conocido como espermiogénesis.

Durante las últimas décadas se ha obtenido un considerable conocimiento científico de la organización anatómica y funcional del testículo, y se han descubierto los aspectos básicos del control hormonal responsable del inicio y la regulación de la proliferación germinal [Parvinen, 1982]. Además, se ha avanzado en el descubrimiento de la extremadamente compleja red de regulación paracrina dirigida por las células de Sertoli, y se han identificado multitud de factores de crecimiento y maduración que interactúan en la unidad funcional túbulo intersticial (Gnessi, 1997). Desde principios de los años noventa se han empezado a identificar genes que intervienen en la regulación de algunos de los pasos críticos de la espermatogénesis (Vogt, 1997). Esta información, toda-

vía fragmentaria, sugiere que por lo menos un 30% de las alteraciones de la producción espermática podrían tener una base genética, y que en la mayoría de los casos se trataría de defectos específicos de la meiosis localizados en las células germinales y no en las células de Sertoli. Es probable además, que una proporción desconocida de trastornos pueda ser debida a alteraciones nutricionales y tóxicas.

Desde el punto de vista de la biología de la reproducción, los aspectos de la espermatogénesis que pueden tener mayor interés son aquellos que relacionan los conocimientos básicos y clínicos emergentes con las aplicaciones terapéuticas propias de la especialidad, esto es, la reproducción asistida y la embriología. En este sentido, nos parece prioritario considerar aquí algunos de los avances diagnósticos que la genética clínica está ofreciendo, puesto que su conocimiento tiene repercusión en el consejo reproductivo y la actitud terapéutica. Otra cuestión de indudable actualidad es la suscitada por la posibilidad de conseguir maduración de las células germinales en modelos experimentales alternativos, como el cultivo *in vitro* o el trasplante de células germinales.

DELECCIONES DEL CROMOSOMA Y

El brazo largo del cromosoma Y (Yq) contiene 1) genes pseudoautosómicos, 2) genes ubicados en las regiones homólogas X-Y, 3) genes específicos de este cromosoma, que se expresan únicamente en el testículo o tejidos precursores. Este es el caso, por ejemplo, del gen SRY, que determina la diferenciación sexual, y del grupo de genes candidatos a ser considerados factores determinantes de azospermia (AZF). El término AZF (azoospermia factor) fue propuesto por Tiepolo y Zuffardi (1976) al encontrar deleciones Yq en el estudio citogenético de algunos pa-

Tabla 1
Características de los principales genes candidatas a AZF

	DAZ	RBMY	USP9Y	DBY
Localización	Yq (AZFc)	Yq (AZFb)	Yq (AZFa)	Yq (AZFa)
Organización	Familia de genes	Familia de genes	Gen único	Gen único
Expresión	Células germinales	Espermatogonias Espermatocitos Espermát.Redondas	Ubicuo	Ubicuo Testículo
Proteína	Unión a RNA	Unión a RNA	Ubiquitín hidrolasa	Helicasa RNA
Función	Homología con DAZLI (3p24) en mamíferos	Splicing RNA Homología con rbm murino	Antígeno H-Y	Homología con proteína PL 10 murina

cientes estériles con azoospermia idiopática. Estas grandes deleciones incluían la región eucromática Yq11, por que se sugirió que en esta banda se ubicaba un gen o grupo de genes necesarios para el desarrollo normal del epitelio germinal. Con el desarrollo de nuevos métodos de mapeo cromosómico y el estudio de diversas series de pacientes, se determinó que en muchos casos había deleciones submicroscópicas, detectables sólo mediante STS-PCR o hibridación Southern. En la actualidad, estas microdeleciones han identificado tres locus significativos, denominados AZFa, AZFb y AZFc (Vogt, 1996). Una cuarta región denominada AZFd ha sido propuesta entre AZFa y AZFb (Kent-First, 1999), pero este hallazgo necesita confirmación definitiva. Diversos genes situados en estos locus se expresan en testículo, y por tanto pueden considerarse como genes candidatos AZF.

El método de rastreo utilizado presenta diversos inconvenientes, ya que muchos de los marcadores específicos del cromosoma Y tienen varias copias distribuidas a lo largo de la región eucromática. Por otro lado, algunos marcadores representan polimorfismos con poco valor diagnóstico. A pesar de las limitaciones actuales, el estudio de microdeleciones Yq se ha convertido en una técnica diagnóstica rutinaria en pacientes infértiles. Los estudios publicados hasta ahora en más de 4800 pacientes sugieren que las microdeleciones Yq son una de las causas específicas más comunes de infertilidad masculina (Foresta, 2001). La prevalencia calculada de los datos acumulados desde 1992 es del 8,2% en hombres infértiles. En comparación, sólo el 0,4% de los individuos fértiles muestran microdeleciones, probablemente reflejando polimorfismos. Sin embargo, el valor pronóstico de estas determinaciones es limitado. Los estudios individuales muestran una prevalencia muy variable, que oscila entre el 1% (Van de Ven, 1997) y el 35% (Ferlin, 1999) dependiendo de los criterios de selección y

también del número y tipo de marcadores estudiados. Por tanto, no es posible aún conocer la incidencia real de microdeleciones clínicamente relevantes. Por ejemplo, en hombres oligozoospermicos no seleccionados la frecuencia de deleciones es del 2,9%, pero aumenta al 11,6% en la oligozoospermia idiopática, y al 14,3% cuando además se restringe a oligozoospermia severa ($<5 \times 10^6$ /mL). En hombres azoospermicos no obstructivos la frecuencia de deleciones es de 10,5%, pero aumenta al 18% si sólo se tienen en cuenta los casos idiopáticos. Además, si los pacientes son seleccionados en base a la histología testicular, la prevalencia es del 24,7% en oligozoospermia severa con patrón testicular de hipoespermatogénesis severa, y llega al 34,5% en azoospermia idiopática con diagnóstico histológico de sólo células de Sertoli. En consecuencia, la gran mayoría de hombres con deleciones Yq son azoospermicos (84,3%), mientras que un 14,1% presentan oligozoospermia severa ($<5 \times 10^6$ /mL) y sólo el 1,6% tienen recuentos espermáticos superiores (Foresta 2001). Estos datos apoyan la hipótesis de que las microdeleciones Yq producen una severa alteración de la espermatogénesis con pérdida masiva de la línea germinal, y que el estudio genético es especialmente recomendable en pacientes azoospermicos y oligozoospermicos que no presentan otros factores causales tras la evaluación andrológica completa.

La frecuencia relativa de las distintas regiones delecionadas se muestra en la Tabla 2. La más común es la región AZFc, que incluye el locus DAZ (60%) seguida de la región AZFb, que incluye el locus RBMY (16%). Las deleciones amplias que afectan dos o tres regiones AZF se encuentran en el 13% de los casos, y en el 6% las deleciones se localizan fuera de los intervalos AZF. Algunas de estas amplias deleciones pueden observarse en el cariotipo, y coexistir con presencia normal de todos los marcadores AZF. El fe-

Tabla 2
Frecuencia relativa de deleciones AZF y fenotipos asociados

Tipo de deleción	Frecuencia*%	Seminograma	Histología testicular
AZFa	5	Azoospermia (>65%)	SCS (55%) HipoSPG severa (45%)
AZFb	16	Azoospermia (70%)	BloqSPG (55%) HipoSPG severa (30%)
AZFc	60	Azoospermia (55%) Oligozoospermia (45%)	HipoSPG (60%) SCS (20%) BloqSPG (20%)
AZF a+b	1	Azoospermia	SCS
AZFb+c	8	Azoospermia	SCS
AZFa+b+c	4	Azoospermia	SCS

* 6% de los casos externos a la region AZF
SCS: Sólo Células de Sertoli
HipoSPG: Hipoespermatogénesis
BloqSPG: Bloqueo espermatogénico meiótico

notipo asociado a las deleciones es variable y, en general, no hay correlaciones claras entre la localización cromosómica y la expresión clínica. La Tabla 2 muestra los patrones hallados en los distintos tipos de deleción, a partir de un conjunto de publicaciones revisadas. Las deleciones AZFc se reparten casi por igual entre los individuos azoospermicos y los oligozoospermicos, y la histología testicular muestra patrones variables (sólo células de Sertoli, bloqueo madurativo o hipoespermatogénesis). Además, suelen coexistir túbulos con distinto grado de alteración y con histología diversa en un mismo paciente. Las deleciones en AZFa y AZFb, aunque menos frecuentes, suelen producir azoospermia en dos tercios de los casos, y en general muestran un fenotipo más gravemente afectado, predominando la aplasia germinal (sólo células de Sertoli) en las deleciones AZFa, y el bloqueo en espermatocito en las deleciones AZFb. Entre las posibles hipótesis para la heterogeneidad clínica observada deben considerarse las limitaciones de los métodos diagnósticos, de forma que deleciones distintas pueden aparecer como iguales en el análisis con STS-PCR. También es posible que las manifestaciones clínicas se vean influenciadas por otros genes, en particular por genes homólogos a los contenidos en las regiones AZF, pero ubicados en otros cromosomas (DAZL1, etc.). Únicamente los relativamente escasos pacientes con grandes deleciones que afectan a más de un locus AZF presentan invariablemente alteraciones más severas, con azoospermia y patrón testicular de sólo células de Sertoli.

Se ha sugerido que los defectos en la producción espermática asociados a microdeleciones pueden progresar a lo largo del tiempo, por lo que la situación encontrada en distintos pacientes puede corresponder a diversos estadios evolutivos de un mismo proceso (Page, 1999) y por tanto, los pacientes inicialmente oligozoospermicos pueden convertirse en azoospermicos con el tiempo. Si esta hipótesis se confirma en estudios longitudinales, influirá notablemente en el manejo clínico de estos pacientes, y podría justificar medidas preventivas como la criopreservación preventiva de gametos.

Los pacientes portadores de microdeleciones Yq suelen presentar esterilidad o subfertilidad severa, aunque hay casos de paternidad espontánea (Vogt, 1996; Stuppia, 1996; Edwards, 1997). Por este motivo son candidatos a técnicas de reproducción asistida, especialmente ICSI, con los espermatozoides obtenidos en el eyaculado, o recuperados quirúrgicamente del epidídimo o el testículo. Se ha documentado ampliamente que, mediante estos procedimientos, los espermatozoides portadores de deleciones son capaces de fecundar ovocitos y producir embriones evolutivos. En cualquier caso, y siguiendo las previsiones de transmisión mendeliana, todos los niños heredan las deleciones paternas (Tabla 3). Esta realidad constatada obliga a realizar un consejo genético en todos los casos. Aunque no se conocen actualmente las consecuencias de la transmisión de microdeleciones Yq a los hijos, es de prever que se manifiesten en forma de infertilidad al llegar a la vida adulta. Hay que tener en

Tabla 3
Resultados reproductivos en deleciones del cromosoma Yq

Pacientes n°	Genotipo	Resultado TRA	Referencia
3	del AZFc, AZFd, AZFb	3 niños con deleción	Kent-First, 1996
3	del AZFc	4 niños con deleción	Page, 1999
1	del AZFc (DAZ)	1 niño con deleción	Kamischke, 1999
2	del AZFc, AZFd	2 niños con deleción	Cram, 2000

cuenta la posibilidad de que las alteraciones genéticas sean inestables, y que los hijos presenten deleciones más amplias que las de los padres (Stuppia, 1996), o incluso se acompañen de alteraciones cromosómicas adicionales.

MUTACIONES EN GENES REGULADORES

Existen tres categorías de genes supuestamente funcionales en la regulación de la espermatogénesis. El primer grupo incluye genes que se expresan específicamente en la línea germinal. El segundo grupo abarca genes esenciales para el desarrollo de las gónadas. Su alteración produce secundariamente defectos de la espermatogénesis. Entre estos se encuentran el gen SRY, responsable de la diferenciación gonadal masculina, de la producción y acción de hormona antimulleriana, y el receptor de andrógenos. El tercer grupo es el de aquellos genes que tienen funciones conocidas en los tejidos somáticos y además en la línea germinal. La esterilidad es entonces un efecto asociado a otras alteraciones sistémicas detectables, como el síndrome de Prader-Willi, síndrome de Fanconi, Bardett-Moon-Biedl, Noonan, etc.

Se supone que las alteraciones idiopáticas de la espermatogénesis, en ausencia de anomalías importantes del desarrollo gonadal y de otras enfermedades somáticas, se deben a mutaciones en algunos genes del primer grupo, con funciones específicas en momentos críticos de la maduración germinal. Como ejemplo, la proliferación y renovación de las espermatogonias, la formación del complejo sinaptonémico meiótico, la diferenciación de las espermatídes, etc. Se conocen algunos ejemplos de tales genes a partir de modelos animales, aunque el conocimiento en humanos de sus homólogos es mucho menor.

La expresión del sistema CREM en testículo sugiere que tiene un papel importante en la maduración germinal. Las líneas de ratón transgénico con inactivación (knock-out) de CREM presentan una severa

alteración de la espermiogénesis (Blendy, 1996). Se supone que el gen equivalente en humano (HR6B) también tiene una función similar, pero no se han identificado mutaciones causantes de esterilidad.

Otros genes candidatos para explicar anomalías de espermatogénesis son los de la familia de las ciclinas, que intervienen en la regulación del ciclo celular. Existen al menos siete genes distintos, que se expresan en distintas fases. La ciclina A1 se expresa en la fase G2, y se encuentran en espermátocitos paquiténicos y diploténicos. Su inactivación experimental produce bloqueo completo y apoptosis (Liu 1998). El estudio sistemático de los genes implicados en la regulación del ciclo meiótico está mostrando información que probablemente podrá trasladarse al humano y explicar al menos una fracción de las alteraciones de la espermatogénesis (Munell, 2001)

RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

Los andrógenos, sintetizados principalmente por las células de Leydig del testículo, son esenciales para el desarrollo y la función testicular, la maduración de los caracteres sexuales secundarios, la libido y la estimulación de la espermatogénesis. El mecanismo de acción de los andrógenos se inicia con la unión de estos a un receptor androgénico (RA) de la célula diana y la formación de un complejo andrógeno-receptor, que a su vez activará diferentes mecanismos que estimularán la transcripción y síntesis de genes andrógeno-dependientes y sus correspondientes proteínas.

El RA pertenece a la familia de receptores de hormonas esteroideas, que se unen a secuencias específicas del DNA genómico y inducen la estimulación de la síntesis de RNA. Los miembros de esta familia de receptores poseen un dominio o región N-terminal, un dominio de unión DNA y un dominio unión a hormona. Mientras los dominios de unión a DNA y a hormona son muy parecidos entre las diferentes hor-

monas esteroidales, el dominio N-terminal tiene poca similitud entre los diferentes receptores de esteroides. El gen que codifica para el RA se localiza en la región pericentromérica del brazo largo del cromosoma X (Xq 11-12). El dominio N-terminal es codificado en su totalidad por el exón 1, mientras que el dominio de unión DNA es codificado por los exones 2 y 3, y el dominio de unión al esteroide es codificado por los exones 4 a 8. Una importante característica del dominio N-terminal es la presencia de tripletes CAG repetidos, en número variable que oscila entre 14 y 31, que codifican para el aminoácido glutamina (Edwards, 1992).

Las mutaciones del RA suelen producir síndromes de resistencia que se manifiestan como alteraciones de la diferenciación sexual, además de comprometer el desarrollo gonadal (Quigley 1995). Sin embargo, estas mutaciones son relativamente infrecuentes, y siempre se acompañan de malformaciones congénitas.

La cadena de tripletes CAG, y más concretamente las variaciones en su longitud han despertado un gran interés en los últimos años al haberse comprobado la relación entre una longitud mayor de la cadena de poliglutaminas y el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, en especial la atrofia muscular espino-bulbar o enfermedad de Kennedy, donde los pacientes presentan 40 o más CAG repetidos en comparación con la población normal donde la longitud es inferior a 35 (La Spada, 1991). La etiología de la expansión de la cadena de trinucleótidos y los mecanismos moleculares que provocan esta enfermedad neurológica no se conocen, aunque se ha demostrado que una progresiva expansión de la cadena de tripletes en el RA humano provoca una disminución lineal de la función de transactivación (Mhatre, 1993). Es interesante constatar, además, que los pacientes afectados de enfermedad de Kennedy presentan baja funcionalidad del RA que se manifiesta a partir de los 20 a 30 años como atrofia testicular e hipogonadismo, oligozoospermia o azoospermia, y fertilidad reducida (Arbizu, 1983).

De forma contraria, también se ha demostrado que un acortamiento de la secuencia de tripletes se asocia a un aumento del riesgo de cáncer de próstata de forma temprana, probablemente debido a un aumento de la capacidad de androgenización del RA y una estimulación anormalmente alta del tejido prostático (Hardy, 1996). Estudios más recientes apoyan la existencia de un número aumentado de tripletes CAG en pacientes infértiles, y una reducción de la capacidad de transactivación en comparación con sujetos fértiles (Tut, 1997, Dowing, 1999). La correlación inversa

entre la concentración espermática y la longitud de la cadena CAG parece incluso existir en pacientes fértiles (Eckardstein, 2001). Es posible que las variaciones de la función del RA puedan explicar en el futuro una proporción significativa de las oligozoospermias actualmente consideradas como idiopáticas.

INDUCCIÓN DE LA ESPERMATOGÉNESIS Y TRANSPLANTE DE CÉLULAS GERMINALES

El interés por la posibilidad de conseguir la maduración de las células germinales *in vitro* se ha reavivado recientemente con la descripción de progresión transmeiótica de espermatocitos primarios humanos hasta su maduración a espermátide, en un sistema muy simple de cultivo y en un plazo de tiempo sorprendente (Tesarik, 1998). La maduración *in vitro* se consiguió a partir de fragmentos de tejido testicular desagregado por métodos mecánicos y enzimáticos, y procedía de pacientes azoospermicos por causa obstructiva, pero también por hipoespermatoogénesis severa e incluso por bloqueos madurativos precoces (Tesarik, 2000). Es posible que, al menos en parte, los efectos observados reflejen un fenómeno de selección de las células con mayor capacidad de supervivencia a lo largo del período de cultivo, entre 24 y 72 horas (Tesarik, 1999).

Los primeros estudios de transplante de células germinales se realizaron en ratones (Brinster, 1994). Por medio de microinyección de células troncales espermatoogénicas en el interior de túbulos seminíferos de animales huésped (mutantes C-kit o tratados con busulfan) se consiguió restauración parcial de la espermatoogénesis, que se prolongó hasta dos meses después del transplante. Posteriormente se han realizado modificaciones metodológicas y se han ensayado diversos modelos de xenotransplante, utilizando como donantes células germinales de rata, hamster, conejo, mono y especímenes quirúrgicos de testículo humano (Schlatt, 1999). Hasta ahora, el único sistema en el que se ha conseguido una progresión completa de la espermatoogénesis es el de rata a ratón (Clouthier, 1996). Además de conseguir significativos avances en la eficacia del método, esta línea de investigación ha contribuido a conocer mejor ciertos aspectos fisiológicos de la relación entre las células somáticas del túbulo seminífero y la línea germinal. Se sabe por ejemplo, que las células germinales transplantadas a un huésped de otra especie, adoptan la cinética y la topografía propias de la especie donante, de modo que parece ser la línea germinal la que dicta

el programa de desarrollo (Franca, 1998). Asimismo, se han desarrollado métodos para el cultivo prolongado de espermatogonias, facilitando un potencial trasplante diferido (Nagano, 1998). Las especies más cercanas al hombre en las que se han realizado experimentos de trasplante han sido primates (macacos y titís), depositando espermatogonias en la rete testis (Schlatt, 1999). De este modo es posible rellenar retrógradamente hasta el 70% de los túbulos seminíferos en especies con gónadas relativamente grandes, que harían inviable la microinyección intratubular. Aunque quedan muchos problemas por resolver, el trasplante homólogo germinal, y quizás en el futuro el xenotrasplante, pueden ser una forma de tratamiento efectiva en ciertas situaciones de esterilidad masculina, especialmente las formas adquiridas por enfermedades o tratamientos potencialmente esterilizantes.

BIBLIOGRAFIA

1. **Arbizu T.:** A family with adult SBMA, X-linked inheritance and associated testicular failure. *J Neurol Sci*, 1983, 59 :371-382
2. **Blendy JA, Kaestner KH, Weinbauer GF.:** Severe impairment of spermatogenesis in mice lacking the CREM gene. *Nature*, 1996, 380:162-165
3. **Clouthier DE, Avarbock MR, Maika SD, Hammer RE, Brinster RL.:** Rat spermatogenesis in mouse testis. *Nature*, 1996, 381:418-421
4. **Cram DS, Ma K, Bhasin S, Arias J, Pandjaitan M, Chu B, Audrins P, Saunders D, Quinn F, deKretser D, McLachlan R.:** Y chromosome analysis of infertile men and their sons conceived through intracytoplasmic sperm injection: vertical transmission of deletions and rarity of de novo deletions. *Fertil Steril*, 2000, 74:909-915
5. **Dowring AT.:** Linkage between male infertility and trinucleotide repeat expansion in the androgen receptor gene. *The Lancet*, 1999, 354: 640-643
6. **Eckardstein S, Syska A, Gromoll J, Kamischke A, Simoni M, Nieschlag E.:** Inverse correlation between sperm concentration and number of androgen receptor CAG repeats in normal men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86:2585-2590
7. **Edwards A, Hammong HA, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R.:** Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population group. *Genomics*, 1992, 12:241-253
8. **Edwards RG, Bishop CE.:** On the origin and frequency of Y chromosome deletions responsible for severe male infertility. *Mol Hum Reprod*, 1997, 3:549-554
9. **Foresta C, Moro E, Ferlin A.:** Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *End Rev*, 2001, 22:226-239
10. **Franca LR, Ogawa T, Avarbock MR, Brinster RL, Russell LD.:** Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol Reprod*, 1998, 59:1371-1377
11. **Gnessi L, Fabbri A, Spera G.:** Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment. *End Rev*, 1997, 18:541-609
12. **Hardy DO.:** Androgen receptor CAG repeat lengths in prostate cancer: correlation with age of onset. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:4400-4405
13. **Ferlin A, Moro E, Garolla A, Foresta C.:** Human male infertility and Y chromosome deletions: role of the AZF-candidate genes DAZ, RBM and DFFRY. *Hum Reprod*, 1999, 14:1710-1716
14. **Kamischke A, Gromoll J, Simoni M, Behre HM, Nieschlag E.:** Transmission of a Y chromosomal deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report. *Hum Reprod*, 1999, 14:2320-2322
15. **Kent-First MG, Kol S, Muallem A, Ofir R, Manor D, Blazer S, First N, Itskovitz-Eldor J.:** The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. *Mol Hum Reprod*, 1996, 2:943-950
16. **Kent-First MG, Muallem A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Nolten W, Meisner L, Chandley A, Gouchy G, Jorgensen L, Havighurst T, Grosch J.:** Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol Reprod Dev*, 1999, 53:27-41
17. **La Spada AR.:** Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*, 1991, 352: 77-79
18. **Liu D, Matzuk MM, Sung WK, Guo Q, Wang P, Wolgemuth DJ.:** Cyclin A1 is required for meiosis in the male mouse. *Nat Genet*, 1998, 20:377-380
19. **Mhatre AN.:** Reduced transcriptional regulatory competence of the androgen receptor in X-linked spinal and bulbar atrophy. *Nat Genet*, 1993, 5:184-188
20. **Munell F, Martínez D, Martínez O, Torán N, Raventós J.:** Regulación génica de la progresión de la espermatogénesis. En: *Temas de actualidad en andrología*, 2001. Jarpyo Ed, Madrid
21. **Nagano M, Avarbock MR, Leonida EB, Brinster CJ, Brinster RL.:** Culture of mouse spermatogonial stem cells. *Tissue Cell*, 1998, 30:389-397
22. **Page DC, Silber S, Brown LG.:** Men with infertility

- caused by AZFc deletion can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum Reprod*, 1999, 14:1722-1726
23. **Parvinen M.:** Regulation of the seminiferous epithelium. *End Rev*, 1982, 3:404-417
 24. **Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, El-Awady MK, Wilson EM, French FS.:** Androgen receptor defects: historical, clinical and molecular perspectives. *End Rev*, 1995, 16:271-321
 25. **Serio M, Forti G.:** The impact of andrological research on the treatment of male infertility. En: Waites GMH, Frick J, Baker GWH (Eds.) *Current advances in andrology*, Monduzzi Ed, 1997, pp. 23-29
 26. **Schlatt S, Rosiepen G, Weinbauer GF, Rolf C, Brook PF, Nieschlag E.:** Germ cell transfer into rat, bovine, monkey and human testes. *Human Reprod*, 1999, 14:144-150
 27. **Stuppia L, Calabrese G, Franchi PG, Mingarelli R, Gatta V, Palka G, Dallapicola B.:** Widening of a Y-chromosome interval-6 deletion transmitted from father to his infertile son accounts for an oligozoospermia critical region distal to the RBM1 and DAZgenes. *Am J Hum Genet*, 1996, 59:1393-1395
 28. **Tesarik J, Guido M, Mendoza C, Greco E.:** Human spermatogenesis in vitro: respective effects of follicle-stimulating hormone and testosterone on meiosis, spermiogenesis, and Sertoli cell apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:4467-4473
 29. **Tesarik J, Mendoza C, Greco E.:** In vitro culture facilitates the selection of healthy spermatids for assisted reproduction. *Fertil Steril*, 1999, 72:809-813
 30. **Tesarik J, Balaban B, Isiklar A, Alatas C, Urman B, Aksoy S, Mendoza C, Greco E.:** In-vitro spermatogenesis resumption in men with maturation arrest: relationship with in-vivo blocking stage and serum FSH. *Hum Reprod*, 2000, 15:1350-1354
 31. **Tiepolo L, Zuffardi O.:** Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome lon arm. *Hum Genet*, 1976, 34:119-124
 32. **Tut TG.:** Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:3777-3782
 33. **Van der Ven K, Montag M, Peschka B, Leygraaf J, Schwanitz G, Haidl G, Krebs D, van der Ven H.:** Combined cytogenetic and Y chromosome microdeletion screening in males undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Mol Hum Reprod*, 1997, 3:699-704
 34. **Vogt PH, Edelman A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter P, Kohn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C, Hartmann M, Hartschuh W, Meschede D, Behre HM, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Grone HJ, Jung A, Engel W, Haidl G.:** Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*, 1996, 5:933-943
 35. **Vogt PH.:** Genetic disorders of human spermatogenesis. En: Waites GMH, Frick J, Baker GWH (Eds.) *Current advances in andrology*, 1997, Monduzzi Ed, pp. 51-73