

Andrología

Microdelecciones en el cromosoma Y e implicaciones en la esterilidad masculina

Y chromosome microdeletions and implications for male infertility.

Lledó B¹, Galán F.M.², Ten J³, Bernabeu R⁴

¹Dpto. Biología Molecular. Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología, Alicante. ²Dpto. Genética. Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología, Alicante. ³Dpto. Biología de la Reproducción. Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología, Alicante. ⁴Dpto. Medicina Reproductiva. Instituto Bernabeu de Fertilidad y Ginecología, Alicante.

Resumen

El estudio de la espermatogénesis ha permitido identificar una serie de factores genéticos implicados en la esterilidad masculina, localizados en el cromosoma Y: región AZF. Esta región se encuentra dividida en tres locus no solapados (AZFa, AZFb, AZFc), que contienen genes implicados en el control de la espermatogénesis, llamados genes candidatos. De modo que, microdelecciones en estos locus están asociadas con fallos espermatogénicos manifestándose como azoospermias y oligozoospermias severas con diferentes patologías testiculares desde SCOS hasta hipoespermatogénesis. El avance en las técnicas de biología molecular ha permitido que el cribado de microdelecciones se lleve a cabo analizando la presencia de marcadores PCR-STS específicos. El cribado de microdelecciones en el cromosoma Y permite identificar la etiología de la infertilidad masculina, así como posee un valor pronóstico y mejora el consejo genético.

Palabras clave: AZF. Infertilidad masculina

Summary

Studies involving the mechanisms underlying spermatogenesis have identified a number of genetic determinants of male infertility, mapped on the Y chromosome and named AZF. The AZF region has 3 non-overlapping loci AZFa, AZFb, AZFc carrying genes involved in the control of spermatogenesis and named candidate genes. For this reason, microdeletions in these loci are associated with spermatogenic failure and determine azoospermia and severe oligozoospermia with a varied testis histological profile ranging from SCOS to hypoespermatogenesis. Improvements in molecular biology techniques have made this diagnosis easier. An could be performed by analysing the presence of specific PCR-STS markers. Y chromosome microdeletion screening is important to define the etiology of the impaired or absence of spermatogenesis. Moreover, it has a great value in order to avoid some testicular biopsies and for genetic counselling purposes.

Key words: AZF. Male infertility

Correspondencia: Dr. Rafael Bernabeu
Avda. Albufereta, 31
03016 Alicante
e-mail: dir@institutobernabeu.com

INTRODUCCIÓN

La esterilidad afecta al 10-15% de las parejas (1), siendo el factor masculino responsable en aproximadamente el 50% de los casos (2). La esterilidad masculina aunque asociada a alteraciones en el recuento, movilidad y/o morfología espermática; se da en un 10% con parámetros espermáticos normales, siendo defectos metabólicos (3) y de membrana (4) de los espermatozoides la causa más probable de su incapacidad de fertilizar. El origen del fallo en la función testicular es desconocido en el 60% de los casos (5). Diferentes estudios apuntan a factores ambientales (6) y genéticos (7) como causas de la disminución en la salud reproductiva masculina.

La asociación entre la esterilidad masculina y las anomalías cromosómicas se hace evidente tras la comparación de las incidencias de las anomalías cromosómicas de la población control (0,6 %) frente a la de varones infértiles (12,6%) (7). Especialmente, la incidencia en las anomalías de cromosomas sexuales es 15 veces mayor que en la población control (8). El síndrome de Klinefelter (47, XXY) es la causa cromosómica más frecuente asociada a la esterilidad masculina.

El cromosoma Y no es esencial para la vida, y se asumía que muchas regiones eran funcionalmente inertes. La determinación sexual controlada por el gen SRY (9) se había definido como la principal función relacionada con el cromosoma Y. Sin embargo, esta creencia ha cambiado recientemente, identificando otra importante función: el control de la espermatogénesis. De hecho, son muchos los genes que se han identificado y localizado relacionados con esta función.

La espermatogénesis depende de una cascada regulada por genes que coordinan la proliferación espermatozoonal, las divisiones reduccionales y la diferenciación morfológica que concluyen con la maduración espermática (10). La primera evidencia de la importancia del cromosoma Y en la espermatogénesis fue postulada por Tiepolo y Zuffardi (11). Observaron grandes deleciones afectando a la región heterocromatínica Yq12 y regiones adyacentes de la parte eucromatínica Yq11 en individuos azoospermicos, sugiriendo que tales deleciones eran la causa de la azoospermia. Propusieron que un factor genético localizado en Yq11 era esencial para el desarrollo de la línea germinal masculina, definiéndose como factor de azoospermia (AZF). La complejidad del AZF se reveló tras el desarrollo de un mapeado STS (Sequence Tagged Sites) (12), permitiendo la detec-

ción de deleciones submicroscópicas que no son visibles a nivel citogenético y son detectados sólo por STS-PCR o Southern. Tales deleciones son llamadas microdeleciones. El análisis molecular en individuos con microdeleciones sugiere que la región crítica para la espermatogénesis, AZF, esta dividida en 3 locus no solapados: AZFa, AZFb, y AZFc que se requieren para la espermatogénesis normal, siendo el factor etiológico del 10-15% de las azoospermias y oligospermias severas (13).

Gracias al desarrollo de las técnicas de ICSI y TESE se han conseguido embarazos con espermatozoides de portadores de microdeleciones en el cromosoma Y (14). La realización de un cribado rutinario de microdeleciones del cromosoma Y nos permite diagnosticar, en muchos casos, la causa de la esterilidad masculina, evitar biopsias, criopreservar espermatozoides y emitir un consejo genético (15). De ahí, la importancia de su estudio como parte esencial del protocolo en todo factor masculino severo.

ESTRUCTURA DEL CROMOSOMA Y

El cromosoma Y es el cromosoma humano más pequeño con un brazo corto (Yp) y uno largo (Yq). En regiones distales de ambos brazos se encuentran secuencias homólogas al cromosoma X, que se denominan regiones pseudoautosómicas (PARs). Debido a su elevada identidad de secuencia ambas regiones recombinan entre sí durante la meiosis. Fuera de estas regiones se encuentra la región no recombinante (NRY), que consta de secuencias repetitivas homólogas al cromosoma X y específicas del cromosoma Y. Desde el punto de vista citogenético se diferencia una región heterocromatínica distal, Yq12, y una región eucromatínica proximal Yq11 (subdividida en Yq11.1, 11.21, 11.22, 11.23) en el brazo largo. El brazo corto únicamente comprende una región eucromatínica denominada Yp11 (Figura 1).

El primer mapa, llevado a cabo por Vergnaud, divide al cromosoma Y en 7 intervalos (16): Yp y el centrómero contienen los intervalos de 1 al 4, los intervalos 5 y 6 comprenden la región eucromatínica de Yq, y finalmente la región heterocromatínica se identifica como el intervalo 7 (Figura 1). Vollrath subdivide los 7 intervalos en 43 subintervalos dando lugar al mapa más empleado en la actualidad (12). Gracias a la secuenciación del cromosoma Y (17) se han podido generar y localizar más de 300 STSs. Las STSs se definen como secuencias conocidas de DNA genómico que pueden ser amplificadas por PCR y son específicas de un gen o locus. Más de 30 genes y familias

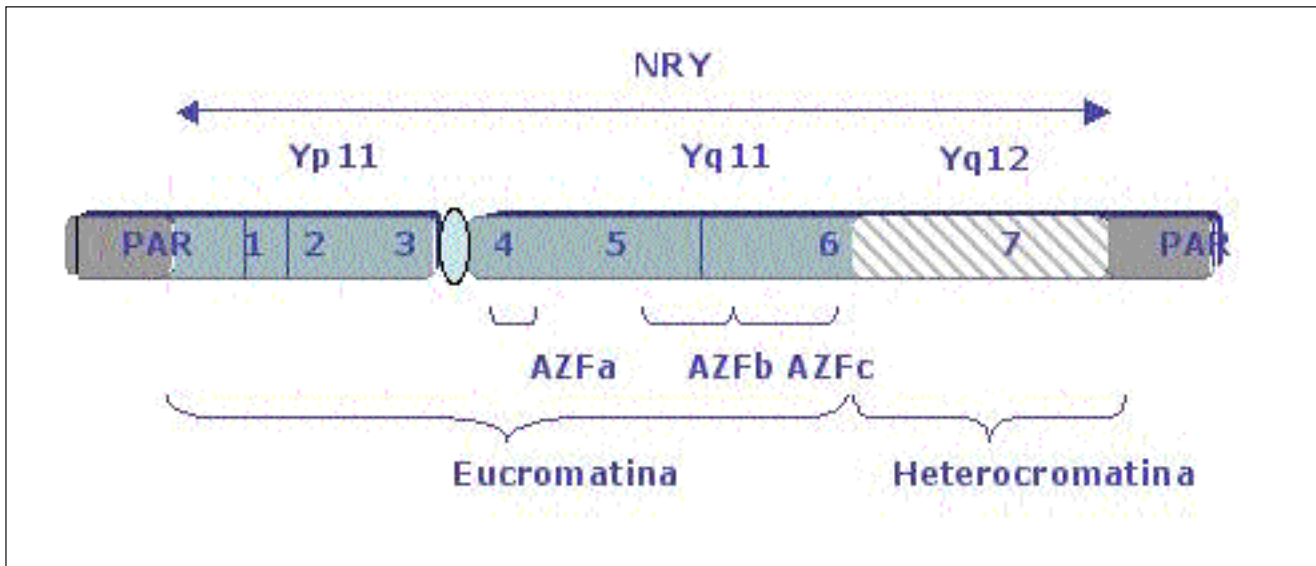


Figura 1

Representación esquemática del cromosoma Y. Las regiones PARs están representadas en gris, la región eucromatínica en azul, y la heterocromatínica con rayas diagonales. La región eucromatínica y heterocromatínica forman la región no recombinante (NRY). Los 7 intervalos del mapeado de Vergnaud se representan mediante números. En la parte inferior se han localizado los locus AZF

de genes han sido identificados en el cromosoma Y. Estos genes en función de su localización, número de copias y patrón de expresión pueden ser clasificados en 3 grupos:

- * Genes pseudoautosómicos (como ASMTL, MIC2, IL9R). Las secuencias son idénticas en los cromosomas X e Y. Se expresan, salvo excepciones, en diferentes tejidos.
- * Genes localizados en la región NRY homólogos X-Y (como USP9Y, DBY, UTY). Codifican proteínas que poseen alto grado de identidad con homólogos del cromosoma X. Se expresan en diferentes tejidos, aunque se han identificado transcritos específicos de tejido testicular.
- * Genes específicos del cromosoma Y (como DAZ, CDY, PRY) son genes multicopias y se expresan específicamente en el tejido testicular.

Una excepción a esta clasificación es el gen SRY que determina el desarrollo de los testículos, siendo específico del cromosoma Y, en copia única y limitada su expresión a la cresta genital (18), células germinales y de Sertoli fetales y adultas (19).

GENES CANDIDATOS DEL AZF

En los intervalos 5 y 6 del mapa del cromosoma Y se pueden localizar los distintos locus del AZF. AZFa está localizado en la región proximal del intervalo 5,

AZFb se expande desde la posición distal del 5 a la proximal del 6 y AZFc se localiza en la porción distal del intervalo 6 (Figura 1). Recientemente se ha propuesto una cuarta región AZFd, entre AZFb y AZFc (20). La diferenciación de esta cuarta región es controvertida, ya que puede identificarse únicamente como la región proximal de AZFc. Sin embargo, debido a la diferenciación fenotípica entre individuos portadores de microdeleciones en esta región y la región distal AZFc se pueden considerar como locus diferentes. Estudios centrados en esta región podrían confirmar la identificación de este nuevo locus.

La explicación de por qué estos locus están asociados a un fallo testicular reside en la localización de diferentes genes implicados en la espermatogénesis. Debido a su función se expresan específicamente en el tejido testicular, y se denominan genes candidatos-AZF.

* *Genes candidatos AZFa.* Los genes identificados en esta región y delecionados en individuos infértiles de forma independiente o combinada son: USP9Y (ubiquitina-proteasa 9 específica, cromosoma Y), DBY (DEADbox del cromosoma Y), UTY (motivo TPR del cromosoma Y). Los 3 poseen copias homólogas localizadas en el cromosoma X que poseen una expresión ubicua. USP9Y (DFFRY) codifica una proteína con actividad C-terminal ubiquitina hidrolasa homóloga a la proteína faf de *Drosophila* implicada en la degradación de factores de transcripción es-

pecíficos (21). Como consecuencia, USP9Y podría regular la cascada de transducción de señales en la espermatogénesis. El gen DBY codifica una proteína que contiene un motivo DEADbox que es característico de las helicasas de RNA dependientes de ATP y por tanto tiene un papel importante en el metabolismo del RNA (22). La función de UTY es desconocida.

Estudios recientes sugieren que deleciones que afectan a varios genes del AZFa actúan sinérgicamente provocando fenotipos más severos (23). El gen que se encuentra con mayor frecuencia delecionado en AZFa es DBY. Sin embargo, su función en el desarrollo de la línea germinal es todavía desconocida.

* *Genes candidatos AZFb*. En este locus se localiza el gen EIFIAY (Factor de iniciación de la traducción 1A). Codifica la isoforma Y del eIF-A. Su expresión es independiente de tejido, pero existen transcritos específicos de tejido testicular (22). El primer gen identificado como gen candidato de la espermatogénesis se localizó en el AZFb, y se denominó RBMY (Motivo de unión al RNA del cromosoma Y). Consiste en una familia multicopia de genes (30-40 copias) muchos de los cuales son pseudogenes y se encuentran repartidos en todo el cromosoma Y. Codifican proteínas nucleares que contienen motivos de unión al RNA. Existen genes homólogos localizados en el cromosoma X (RBMX), sin embargo su expresión es inespecífica de tejido. Sólo los que están localizados en la región AZFb y organizados en tandems repetitivos se expresan en células germinales, presentando una función directa en la espermatogénesis (24) actuando sobre el procesamiento y maduración del mRNA (25). Por todo ello, se convierte en el gen candidato más importante.

El hecho de la existencia de muchas copias del gen implica que se necesitan grandes cantidades de producto para poder obtener un recuento espermático adecuado. La deleción de ciertas copias (efecto dosis) podría manifestarse como oligozoospermias más que como azoospermias debido a los niveles insuficientes de transcritos, en lugar de la ausencia de uno particular (26).

Recientemente, se ha identificado un nuevo gen, HSFY (Factor de choque térmico del cromosoma Y) localizado en el locus AZFb con importantes implicaciones en la espermatogénesis (27) y delecionado en azoospermicos (28). La estructura genómica está constituida por una familia multicopia de genes repartidos en todo el cromosoma Y. Todos, salvo la copia localizada en AZFb son pseudogenes (27). Codifica una proteína nuclear que contiene motivos de unión al DNA, y sufre una translocación al citoplasma en dife-

rentes fases del proceso espermatogénico (28). Se expresan específicamente en las células de Sertoli y células germinales. La deleción de este locus siempre se ve acompañada de RBMY, por ello, la consideración de gen candidato es debido a su localización espacial y temporal específica.

* *Genes candidatos AZFc*: En este locus también se ha identificado la presencia de una familia de genes multicopia con la típica disposición de repeticiones en tándem, llamados genes DAZ (29). El gen DAZ codifica una proteína con un dominio N-terminal de unión a RNA y un C-terminal con secuencias repetidas de 24 aminoácidos. La expresión de DAZ comienza en las espermatogonias, siendo máxima en los espermátocitos primarios (30) y volviéndose a reiniciar en las colas de los espermatozoides maduros (31). Los transcritos localizados en las células germinales pueden regular el almacenamiento o transporte de mRNA específicos. La complejidad de expresión de este gen se incrementa debido al elevado número de copias (efecto dosis) y a los distintos transcritos que se pueden obtener de cada gen por el splicing alternativo. Aunque DAZ no es el único gen en la región distal de Yq, su elevada prevalencia de deleciones en individuos infértiles lo convierte en el mejor candidato AZFc. Otros genes identificados en AZFc son CDY1, BPY2, PRY (tirosin fosfatasa) y TTY (transcritos específicos de tejido testicular de función desconocida) (32). La función de estos genes es desconocida, sin embargo comparten características comunes: son genes multicopia, se expresan sólo en tejido testicular y son específicos del cromosoma Y. La implicación de estos genes en la espermatogénesis es desconocida, ya que siempre su deleción se encuentra asociada a DAZ, no pudiendo ser considerados como genes candidatos verdaderos.

El locus AZFc se considera el locus espermatogénico más joven, ya que no se ha identificado en ratones.

MÉTODOS DE DETECCIÓN

Una vez ha sido elaborado el mapa de marcadores de PCR del cromosoma Y (33), más de 300 STSs han sido físicamente localizados. Cada STS detecta secuencias conocidas de DNA genómico y su amplificación normal por PCR indica la presencia de esta secuencia en el cromosoma Y, mientras que la no amplificación sugiere deleción. Un STS debe ser específico para un gen o familia de genes o puede detectar secuencias anónimas. Algunos STS pueden ser

polimorfismos normales y no deben ser incluidos en un cribado de deleciones del cromosoma Y.

La técnica de STS-PCR se lleva a cabo a partir de DNA genómico extraído de linfocitos de sangre periférica. Debe emplearse DNA de elevada calidad y controles internos + (gen SRY), internos - (gen ZFX/ZFY), externo + (mujer fértil), y externo - (varón no portador de microdeleciones). Para poder incorporar los controles internos se deben realizar reacciones de multiplex-PCR en las cuales los controles internos se amplifican conjuntamente con los STSs seleccionados. De esta manera se descarta que la no amplificación se deba a un fallo en la reacción de PCR, identificando la ausencia de la secuencia en el DNA molde empleado. El número de STSs empleado en el screening es variable, la Red de Calidad Europea de Genética Molecular (EMQN) intenta estandarizar los métodos de cribaje, estableciendo en 2 o 3 STSs por locus AZF los mínimos necesarios para poder detectar el 90% de las microdeleciones del cromosoma Y.

El rápido progreso de las técnicas de biología molecular nos podrán permitir en un futuro cercano mejorar la calidad y rapidez de la diagnosis. Por ejemplo, el empleo de PCR fluorescente o incluso métodos automatizados de detección, como las técnicas de microarrays.

Mediante STS-PCR se ha podido establecer, de forma general, que la prevalencia de deleciones en el cromosoma Y oscila entre un 5-10% de los varones oligozoospermicos y un 15% de los azoospermicos (34). En función del criterio de la selección de los pacientes sometidos al estudio y las diferencias poblacionales el porcentaje puede variar. Entre los 3 locus AZF la incidencia de deleciones es mayor en AZFc (60%), siendo menor en AZFb (16%), y en AZFa (5%). En deleciones combinadas AZFb+c (9%) es la mayoritaria, mientras que AZFa+b (2%) y AZFa+b+c (4%) son menos frecuentes (35).

CORRELACIONES FENOTIPO- GENOTIPO

En aras a emitir un pronóstico histológico, sería deseable poder establecer correlaciones fenotipo-genotipo, pero los estudios realizados hasta la fecha han sido incapaces de demostrarlas. No obstante, hay ciertos patrones histológicos según las microdeleciones presente (Tabla 1) :

1. *Deleciones en la región AZFa*: Lo más habitual es que provoquen azoospermias por el síndrome de células de Sertoli (SCOS). Más raramente asocia-

Tabla 1

Fenotipos testiculares asociados a microdeleciones en la región AZF.

Correlaciones Genotipo-Fenotipo	
Locus Deleccionado	Histología testicular
AZFa	60 % SCOS 40 % Hipoespermatogénesis
AZFb	15 % SCOS 30 % Hipoespermatogénesis 55 % Bloqueo meiótico
AZFc	20 % SCOS 60 % Hipoespermatogénesis 20 % Bloqueo meiótico
AZFd	50 % Teratozoospermias 35 % Hipoespermatogénesis 15 % Bloqueo meiótico

das a oligozoospermias severas por hipoespermatogénesis severas, y bloqueo de la maduración (36). Diferentes estudios muestran que deleciones del gen DBY en la región AZFa están asociados tanto a SCOS como a hipoespermatogénesis severas, sugiriendo que este gen puede regular las primeras fases del proceso espermatoogénico o la actividad de las espermatogonias (37). Por el contrario la deleción de USP9Y, así como su mutación puntual (38) determinan sólo hipoespermatogénesis.

2. *Portadores de deleciones en la región AZFb* pueden presentar fenotipos heterogéneos. Aproximadamente en la mitad de los casos se observa un bloqueo de la maduración detenida en paquiteno. Las poblaciones de espermatogonias y de espermatoocitos primarios son normales, sin embargo no se observan células germinales postmeióticas. La heterogeneidad de las alteraciones espermatoogénicas observadas en los portadores de deleciones en AZFb indican múltiples funciones de RBMY durante la espermatogénesis o bien la existencia de otros genes localizados en esta región que pueden actuar en combinación con RBMY, siendo su presencia o ausencia quien modula el fenotipo (35). Por todo ello, deleciones en AZFb se manifiestan frecuentemente como azoospermias, siendo las oligozoospermias severas menos frecuentes (39).

3. *Deleciones en la región AZFc* están asociadas con azoospermias y oligozoospermias severas. La histología testicular puede variar desde SCOS hasta hipoespermatogénesis y bloqueo de la maduración detenida en el estado de espermátida. Es frecuente encontrar túbulos seminíferos con afecciones varia-

bles en el mismo individuo. En cualquier caso, la ausencia de DAZ parece ser insuficiente para determinar la pérdida completa de la línea espermatogénica, aunque reduce el número celular o altera su proceso de maduración. Es posible que el daño tisular causado por deleciones en DAZ sea progresivo de modo que pacientes oligozoospermicos puedan convertirse en azoospermicos con el tiempo (35). Este hecho posee una gran importancia ya que la crioconservación en estos casos, puede evitar técnicas invasivas en un futuro. Cabe resaltar que microdeleciones en la región proximal AZFc pueden estar asociadas con individuos normozoospermicos con teratozoospermias severas, lo que ha llevado a diferenciar esta región como un probable cuarto locus, AZFd (20). Como no es habitual que se incluyan pacientes teratozoospermicos como única alteración del espermiograma en el cribado de microdeleciones no se ha podido concluir esta relación como definitiva. Por todo ello, estudios centrados en este aspecto podrían corroborar si existe dicha correlación fenotípica, dando valor para la diferenciación de un cuarto locus en la región AZF.

Las deleciones que afectan a más de un locus muestran fenotipos homogéneos y en general severos: azoospermias manifestadas como SCOS. Tales deleciones revelan el efecto sumativo de cada deleción independiente. Sin embargo, microdeleciones de un único locus pueden ocasionar fenotipos heterogéneos.

Considerando estas correlaciones fenotipo-genotipo es evidente que deleciones similares o idénticas puedan causar distintos efectos en la espermatogénesis.

Existen varias hipótesis que pueden explicar este hecho. En primer lugar, la diferente extensión de la deleción que puede afectar al locus completo o a unos genes provocaría distintos fenotipos, siendo, en general, más severos cuando mayor sea la deleción. En segundo lugar, pueden presentarse diferentes fenotipos como consecuencia de un mosaico de la línea germinal, resultando que algunas células germinales tienen cromosomas Y intactos (39). Tal mosaico no se encontraría presente en los linfocitos de sangre periférica empleados para obtener el DNA. Finalmente una tercera hipótesis propone que para aquellos genes candidatos de los locus AZF que posean homólogos en el cromosoma X (por ejemplo DBX, USP9X, RBMX) o en cromosomas autosómicos, podrían verse compensada su ausencia por tales genes homólogos, modulando su repercusión en el fenotipo.

A pesar de que existe una heterogeneidad fenotípica asociada a cada genotipo, considerando el fenotipo más frecuente manifestado se puede establecer, de for-

ma simplificada, que deleciones en AZFa están asociadas al síndrome de células de Sertoli tipo I; un bloqueo meiótico se produce en portadores de deleciones en AZFb. En el caso de portadores de deleciones en el locus AZFc la mayoría de los túbulos seminíferos poseen sólo células de Sertoli, y en algunos se observan células germinales (32) (Figura 2) (Tabla 1).

ORIGEN DE LAS MICRODELECCIONES AZF

Estudios familiares revelan que en la mayoría de los casos las microdeleciones en AZF son de novo. Es posible que en los padres la línea germinal sea un mosaico de tales deleciones, mientras que en sangre periférica conserven el cromosoma Y intacto. De este modo la deleción se podría transmitir a la siguiente generación, pero no se detectaría en DNA paterno (35). Se desconoce a que nivel puede ocurrir la deleción, aunque los espermatocitos primarios en profase meiótica son probablemente las células más susceptibles. El mecanismo por el cual ocurre la deleción no está claro, ya que sólo determinadas regiones del cromosoma Y recombinan con el cromosoma X y ninguna recombinación ocurre en la región AZF. A pesar de ello el cromosoma Y es el cromosoma humano que espontáneamente más material genético pierde. La elevada inestabilidad del cromosoma Y se explica por el alto porcentaje de secuencias repetitivas, entre las cuales pueden darse recombinaciones intracromosómicas que causen la pérdida de material genético y por tanto la microdeleción. Así mismo, como consecuencia de reajustes complejos se pueden producir, incluso, dobles deleciones intersticiales. Determinados factores genéticos o ambientales específicos pueden producir mayores proporciones de espermatozoides con la microdeleción de novo, que podrían competir con espermatozoides no portadores de deleciones para fertilizar al ovocito. Otro nivel en el que la deleción puede ocurrir es durante las primeras fases del desarrollo embrionario. En cualquier caso, el origen de novo de las microdeleciones AZF de varones infértiles es fundamental para establecer el papel patogénico en la pérdida de la función espermatogénica.

IMPLICACIONES CLÍNICAS

La etiología de la esterilidad masculina está asociada a distintas patologías testiculares consecuencia de diferentes factores (enfermedades sistémicas, desórdenes endocrinológicos, criptoquidia, ausencia/

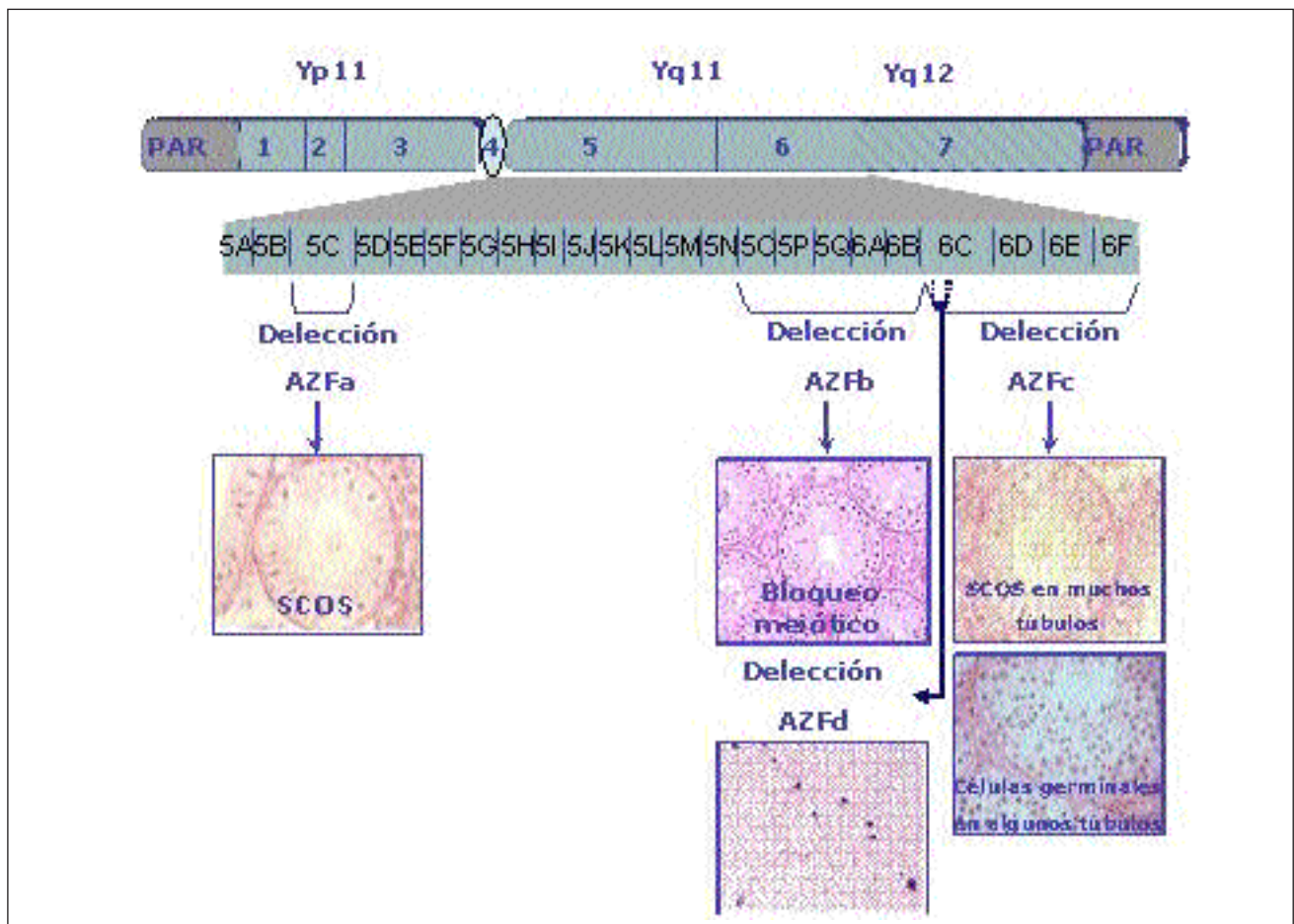


Figura 2

Ejemplos de patologías testiculares asociadas a microdeleciones AZF. Portadores de microdeleciones AZFa manifiestan en la mayoría de los casos SCOS, de AZFb frecuentemente muestran bloqueo meiótico; mientras que portadores de microdeleciones AZFc presentan una heterogeneidad testicular: túbulos con SCOS y túbulos con células germinales en diferentes fases de diferenciación. Microdeleciones en la región proximal AZFc pueden estar asociadas con individuos normozoospermicos con teratozoospermias severas, diferenciando esta región como un probable cuarto locus, AZFd.

obstrucción de conductos seminales, infecciones ... etc.), sin embargo en un alto porcentaje de casos la causa es desconocida, definiéndose como idiopática. El estudio de microdeleciones en AZF puede ayudar al desarrollo de mejores métodos diagnósticos y un mayor conocimiento de la espermatogénesis. Muchos factores, incluso la mayoría de secuencias repetitivas del cromosoma Y complican la interpretación de los resultados de las microdeleciones en AZF y el estudio de genes candidatos que tienen funciones críticas en la espermatogénesis. En cualquier caso, varones con oligozoospermias severas deben ser analizados para microdeleciones en AZF (20), ya que si consideramos la progresión del fallo espermatogénico (40), varones oligozoospermicos pueden convertirse

en azoospermicos con el tiempo. Como consecuencia, en estos casos se debe sugerir la crioconservación para evitar técnicas más invasivas en un futuro (34). Así mismo, existe una relación entre el locus AZF delecionado y la probabilidad de obtener espermatozoides tras una TESE; microdeleciones en AZFa/AZFb tienen mal pronóstico de recuperar espermatozoides a diferencia de microdeleciones AZFc (41) (Tabla 2).

La ICSI permite dar solución a los problemas reproductivos de portadores de microdeleciones en AZF. Diferentes estudios revelan que no existe alteración ni en la tasa de fertilización (42) ni en el desarrollo embrionario (43) obtenidos con espermatozoides de individuos portadores de microdeleciones. Sin embargo, en la decisión reproductiva tomada por

Tabla 2

Implicaciones clínicas del cribado de microdeleciones del cromosoma Y en la esterilidad masculina

IMPLICACIONES CLÍNICAS

- 1.- Criopreservar: AZFc → Azoospermias
- 2.- Evitar biopsias: AZFa-c → SOCS
- 3.-Mejorar el pronóstico previamente a la biopsia:
AZFa/AZFb → mal pronóstico
- 4.- Consejo genético

portadores de microdeleciones en AZF el consejo genético juega un papel importante, ya que existe una transmisión directa de tal delección a la siguiente generación conduciendo a una esterilidad familiar (44). Del mismo modo, se debe considerar que estudios recientes sugieren que la generación siguiente podría presentar un mayor riesgo de diagenesis gonadal o incluso sexual, ya que se ha observado que la pérdida completa del cromosoma Y causante de embriones 45, X0 está asociada a deleciones en AZFc como premutación (45), existiendo un alta incidencia de deleciones en AZFc en individuos 45,X0/46,XY. Por todo ello, sería adecuado ofrecer un diagnóstico genético prenatal, o incluso preimplantacional, para revelar el cariotipo fetal tan pronto como sea posible.

BIBLIOGRAFÍA

1. **World Health Organization.**: Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J. Androl*, 1987; 7: 1-53.
2. **Huynh T, Mollard R, Trounson A.**: Selected genetic factors associated with male infertility. *Hum. Reprod.*, 2002; 8: 183-198.
3. **Corrales JJ, Burgo RM, Miralles JM, Villar E.**: Abnormalities in sperm acid glycosidases from infertile men with OAT. *Fert. Steril.*, 2000; 73: 470-478.
4. **Rajeev SK, Redy KV.**: Sperm membrane protein profiles of fertile and infertile men: identification and characterization of fertility-associated sperm antigen. *Hum. Reprod.*, 2004; 19:234-242.
5. **Krausz C, Murci QL, McElreavey K.**: Prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis. *Hum. Reprod.*, 2000; 15: 1431-1434.
6. **Sinawat S.**:The environmental impact on male fertility. *J Med Assoc Thai*. 2000; 8:880-885.
7. **Nakamura Y, Kitamura M, Nishimura K, Koga M, Kondoh N, Takeyama M, Matsumiya K, Okuyama A.**: Chromosomal variants among 1790 infertile men. *Int J Urol.*, 2001; 8:49-52.
8. **Bhasin, S., Mallidis C, Ma K.**: The genetic basis of infertility in men. *Baillieres Best Prac. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 14: 363-388.
9. **Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischauf AM, Lovell-Badge R, Goodfellow PN.**: A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 1990; 19:240-244.
10. **Hargreave, TB.**: Genetics basis of male infertility. *Br. Med. Bull.*, 2000; 56: 650-671.
11. **Tiepolo L, Zuffardi O.**: Localization of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum. Genet.*, 1976; 34: 119-124.
12. **Vollrath D, Foote S, Hilton A, Brown LG, Beer-Romero P, Bogan JS, Page DC.**: The human Y chromosome: a 43-interval map bases on naturally occurring deletions. *Science*, 1992; 258: 52-59.
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. **Oates RD, Silber S, Brown LG, Page DC.**: Clinical characterization of 42 oligospermic or azospermic men with microdeletion of the AZFc region of the chromosome Y, and of 18 children conceived via ICSI. *Hum. Reprod.*, 2002; 17: 2813-2824.
15. **Raicu F, Popa L, Apóstol P, Cimponeriu D, Dan L, Iliaca E, Bracea LL, Marinescu B, Gavrilla L.**: Screening for microdeletion in human Y chromosome - AZF candidate genes and male infertility. *J. Cell. Mol. Med.*, 2003; 7:43-48.
16. **Vergnaud G, Page DC, Simmler MC, Brown L, Rouyer F, Noel B, Botsein D, De la Chapelle A, Weissenbach J.**: A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization. *Am. J. Hum. Genet.*, 1986; 38: 109-124.
17. **Skaletsky, H. et al.**: The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, 2003; 423: 825-837.
18. **Jeske YW, Bowles J, Greenfield A, Koopman P.**: Expression of a linear Sry transcript in the mouse genital ridge. *Nat. Genet.*, 1995; 10: 480-482.
19. **Salas-Cortes L, Jaubert F,Barboux S, Nessman C, Bono MR, Fellous M, McElreavey K, Roseblatt M.**: The human SRY protein is present in fetal and adult Sertoli cells and germ cells. *Int. J. Dev. Biol.*, 1999; 43: 135-140.
20. **Kent-First M, Muallem A, Shultz J, Prior 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.

21. **Isaksson A, Peverali FA, Kockel L, Mlodzik M, Bohmann D.:** The deubiquitination enzyme fat facets negatively regulates RTK/Ras/MAPK signalling during *Drosophila* eye development. *Mech. Dev.*, 1997; 68: 59-67.
22. **Lahn BT, Page DC.:** Functional coherence of the human Y chromosome. *Science*, 1997; 278: 675-680.
23. **Sargent CA, Boucher CA, Kirsh S, Brown G, Weiss B, Trundley A, Burgoyne P, Saut N, Durand C, Levy N, Terriou P, Hargreave T, Cooke H, Mitchell M, Rappold GA, Affara NA.:** The critical region overlap defining the AZFa male infertility interval of proximal Yq contains three transcribed sequences. *J. Med. Genet.*, 1999; 36: 670-677.
24. **Delbridge ML, Lingenfelter PA, Disteché CM, Graves JA.:** The candidate spermatogenesis gene RBMY has a homologue on the human Y chromosome. *Nat. Genet.*, 1999; 22: 222-223.
25. **Elliott DJ, Oghene K, Makarov G, Makarova O, Hargreave TB, Chandley AC, Eperon IC, Cooke HJ.:** Dynamic changes in the subnuclear organisation of pre-mRNA splicing proteins and RBM during human germ cell development. *J. Cell Sci.*, 1998; 111: 1255-1265.
26. **Pao-Lio K, Shan-Tair W, Yung-Ming L, Ying-Hung L, Yen-Ni T, Chao-Chin H.:** Expression profiles of the DAZ gene family in human testis with and without spermatogenic failure. *Fert. Ster.*, 2004; 81: 1034-1040.
27. **Tessari A, Salata E, Ferlin A, Bartoloni L, Slongo ML, Foresta C.:** Characterization of HSFY, a novel AZFb gene on the Y chromosome with a possible role in human spermatogenesis. *Mol Hum Reprod.*, 2004; 10: 253-258.
28. **Shinka T, Sato Y, Chen G, Naroda T, Kinoshita K, Unemi Y, Tsuji K, Toida K, Iwamoto T, Nakahori Y.:** Molecular Characterization of Heat Shock-like Factor Encoded on the Human Y Chromosome, and Implications for Male Infertility. *Biol Reprod* 2004; 24
29. **Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, Rozen S, Jaffe T, Straus D, Hovatta O.:** Diverse spermatogenic defects in human caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat. Genet.*, 1995; 10: 383-393.
30. **Warchol JB, Augustyniak S, Stecewicz D, Jankowska A.:** Detection of DAZ mRNA distribution in human testis using reverse transcription in situ PCR technique (RT-ISPCR). *Folia Histochem Cytobiol.*, 2001; 39: 117-8.
31. **Habermann B, Mi HF, Edelmann A, Bohring C, Backert IT, Kiesewetter F, Aumüller G, Vogt PH.:** DAZ (Deleted in AZoospermia) genes encode proteins located in human late spermatids and in sperm tails. *Hum Reprod.* 1998; 13: 363-369.
32. **Vogt PH.:** Molecular genetics of Human infertility: from genes to new therapeutic perspectives. *Curr. Pharmal. Des.* 2004; 10: 471-500.
33. **Foot S, Vollrath D, Milton A, Page DC.:** The human Y chromosome: overlapping DNA clones spanning the euchromatic region. *Science*, 1992; 258: 60-66.
34. **Dada R, Gupta NP, Kucheria K.:** Molecular screening for Yq microdeletions in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia. *J. Biosci.*, 2003; 28: 163-168.
35. **Foresta C, Moro E, Ferlin A.:** Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *End. Rev.* 2001; 22: 226-239.
36. **Elliott DJ, Cooke HJ.:** The molecular genetics of male infertility. *Bioessays*; 19: 801-809.
37. **Foresta C, Ferlin A, Moro E.:** Deletion and expression analysis of AZFa-genes on the human Y-chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum Mol Genet.*, 2000; 9:1161-1169.
38. **Sun C, Skaletsky H, Birren B, Devon K, Tang Z, Silber S, Oates R, Page DC.:** An azoospermic man with a de novo point mutation in the Y-chromosomal gene USP9Y. *Nat Genet.*, 1999; 23:429-432.
39. **Affara NA.:** The role of the Y chromosome in male infertility. *Ex. Rev. Mol. Med.*, 2001; 3: 1-13
40. **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.
41. **Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN.:** Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod.*,2003;18:1660-1665.
42. **Choi JM, Chung P, Veeck L, Mielnik A, Palermo GD, Schlegel PN.:** AZF microdeletions of the Y chromosome and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2004; 81:337-341.
43. **Kihaile PE, Kisanga RE, Aoki K, Kumasako Y, Misumi J, Utsunomiya T.:** Embryo outcome in Y-chromosome microdeleted infertile males after ICSI. *Mol Reprod Dev.* 2004, Jun; 68: 176-181.
44. **Komori S, Kato H, Kobayashi S, Koyama K, Isojima S.:**Transmission of Y chromosomal microdeletions from father to son through intracytoplasmic sperm injection. *J Hum Genet.* 2002; 47: 465-468.
45. **Patsalis PC, Sismani C, Quintana-Murci L, Taleb-Bekkouche F, Krausz C, McElreavey K.:** Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet*, 2002; 360:1222-1224.