



DIFERENÇAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS ENTRE HOMENS COM AZOOSPERMIA NÃO OBSTRUTIVA E COM OU SEM ALTERAÇÃO CROMOSSÔMICA

Palavras-Chave: contagem de espermatozoides, infertilidade, Síndrome de Klinefelter

Autores/as:

Aluna: Luísa Riccetto / Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC), Campinas, Brasil

Co-Autor: Andrea Trevas Maciel Guerra / Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brasil

Orientador: Prof. Dr. Gil Guerra Júnior / Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brasil

INTRODUÇÃO

Cerca de 12% da população masculina é infértil, e suas causas são variadas. Entre elas, estão as causas genéticas, como é o caso dos Distúrbios da Diferenciação do Sexo (DDS) e as alterações cromossômicas.

Nesse contexto, sabe-se que cerca de 13% dos homens com azoospermia não-obstrutiva ou oligospermia grave apresentam microdeleções no braço longo do cromossomo Y (regiões AZFa, b ou c), onde estão localizados genes relacionados à espermatogênese. Além disso, uma parcela dos casos pode ainda estar relacionada aos DDS, como a Síndrome de Klinefelter (SK), o DDS 46,XX testicular (Homem 46,XX), e distúrbios na síntese ou ação dos hormônios testiculares. Em especial, a Síndrome de Klinefelter é o DDS mais frequentemente relacionado à infertilidade masculina, somando cerca de 3% de todos os casos. Entretanto, apenas 25% dos portadores da Síndrome de Klinefelter são diagnosticados durante a vida, e quando isso ocorre, geralmente é na idade adulta.

A literatura que compara as características clínicas e laboratoriais dos homens com azoospermia não obstrutiva e DDS ou alterações cromossômicas daqueles sem DDS ou sem alteração cromossômica é escassa. Dessa maneira, o objetivo desse estudo é verificar se existem diferenças clínicas e laboratoriais entre os pacientes com esses respectivos diagnósticos.

METODOLOGIA

Estudo observacional, transversal e retrospectivo, realizado com base na análise de prontuários médicos. Foram incluídos na casuística todos os homens de 20 a 40 anos, com azoospermia não-obstrutiva, encaminhados ao ambulatório de um único serviço para elucidação etiológica, no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2019. Os critérios de inclusão foram: queixa principal de esterilidade conjugal com azoospermia (confirmada por pelo menos dois espermogramas) não-obstrutiva e ausência de história de uso de medicações ou doenças como causa conhecida de infertilidade masculina. Já os critérios de exclusão foram: ter dados clínicos e/ou laboratoriais incompletos no prontuário. Todos os pacientes analisados

passaram por um estudo do cariótipo convencional com bandamento G, resolução de 400 bandas e contagem de no mínimo 20 metáfases. Os pacientes que apresentaram cariótipo normal foram submetidos a pesquisa de microdeleção do cromossomo Y pela técnica de PCR-multiplex, utilizando 28 marcadores moleculares que mapeiam as três regiões consideradas como lócus de azoospermia (AZFa, AZFb, AZFc). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (CAAE: 31480020.0.0000.5404).

Os seguintes dados foram obtidos dos prontuários médicos analisados: diagnóstico clínico, antecedentes familiares (consanguinidade entre os pais e recorrência familiar de infertilidade, sendo considerada esta última positiva se houver parentes do sexo masculino, até primos em terceiro grau, que não obtiveram gestações espontâneas), estatura (cm) e a diferença com a média da estatura alvo familiar (Tanner, 1989), envergadura (cm) e sua relação com a estatura, índice de massa corporal (IMC em kg/m²), comprimento peniano (cm) (Gabrich et al, 2007), volume testicular (mL) e presença ou ausência de ginecomastia. Também foram obtidos os seguintes dados laboratoriais: LH, FSH e testosterona total, resultados do cariótipo, da pesquisa de microdeleções do cromossomo Y e de outros exames complementares citogenéticos ou moleculares.

Os dados coletados foram analisados utilizando-se o *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 23.0 (SPSS, Inc., Chicago, USA), com dados de frequência absoluta e relativa, e análise pelo teste de Mann-Whitney, com significância se $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incluídos 107 casos: 14 com SK, 1 com mosaico SK (46,XY/47,XXY), 4 com outras anomalias de cromossomos sexuais [1 com 47,YYY; 1 com 46,X,idel(Yq); 1 com 46,XY,del(Y)(q12); 1 com 46,X,inv(Y)(p.11.2;q11.23)], 1 com anomalia de autossomos [46,XY,t(6;13)(p12;p13)], 2 com microdeleção de Yq, 2 com infertilidade autossômica recessiva (AR) com aumento de FSH e sem mutação no gene *FSHR*, 1 com síndrome de ILA e mutação confirmada no gene *AR*, 2 com DDS 46,XX testicular, 1 com mutação no gene *NR5A1*, e 79 com etiologia não esclarecida (Tabela 1). Neste grupo com etiologia definida, podem ser considerados DDS os casos de SK, mosaico SK, ILA, mutação no NR5A1 e DDS XX testicular (19 de 107 casos; 17,7%) e, com anomalias cromossômicas, os casos de SK, mosaico SK, DDS XX testicular, outras anomalias de cromossomos sexuais ou de autossomos (22 de 107; 20,6%).

Tabela 1: Dados clínicos e laboratoriais de 101 casos (22 com anomalias cromossômicas e 79 de causa não esclarecida) de homens com azoospermia não-obstrutiva.

	SK	Mosaico SK	ACS	AA	XX testicular	Não Esclarecido
n	14	1	4	1	2	79
Pênis (cm)*	9	9	11	13	10	11
Vol testicular (mL)*	4	20	19	20	5	15
Estatura (E) (cm)*	179	178	170	176	172	173
Estatura Pais (EP) (cm)	170	172	168	170	168	169
E – EP (cm)*	9	6	2	6	4	4

Envergadura (Env) (cm)*	183	186	174	175	174	177
E/Env	1,02	1,04	1,02	1,0	1,02	1,02
IMC (Kg/m²)	28,1	28,7	35,9	21,9	23,1	26,2
LH (UI/L)*	21,6	3,8	7,3	4,6	11,5	6,8
FSH (UI/L)*	30,5	2,8	17,4	1,7	22,0	14,1
Testosterona (ng/mL)*	2,7	4,7	2,2	3,6	5,7	4,5

AA: Anomalia de Autossomo; ACS: Anomalia de Cromossomo Sexual; IMC: Índice de Massa Corporal; SK: Síndrome de Klinefelter; Vol test: média do volume testicular bilateral;

*: diferença estaticamente significativa entre SK e Não Esclarecido (teste de Mann-Whitney)

Pelo número pequeno de casos em alguns destes grupos, apenas os dados entre os 14 com SK e os 79 com etiologia não esclarecida foram comparados estatisticamente. Não foram observadas diferenças estaticamente significativas (teste de Mann-Whitney) entre os grupos SK (n=14) e de etiologia não esclarecida (n=79) para estatura dos pais (p=0,37), relação entre estatura e envergadura (p=0,98) e IMC (p=0,15) (Tabela 1). No entanto, foram observadas diferenças estaticamente significativas entre estes dois grupos para a média do volume testicular (p<0,0001) sendo menor no grupo SK, para comprimento do pênis (p<0,001) sendo menor no grupo SK, para estatura (p<0,001) sendo maior no grupo SK, para a diferença entre a estatura do paciente e a média da estatura dos pais (p<0,0001) sendo maior no grupo SK, para envergadura (p<0,01) sendo maior no grupo SK, para a concentração sérica de LH (p<0,0001) sendo maior no grupo SK, para a concentração sérica de FSH (p<0,0001) sendo maior no grupo SK, e para testosterona total (p<0,001) sendo menor no grupo SK (Tabela 1).

Os pacientes com DDS XX testicular (n=2) apresentaram LH e FSH e comprimento do pênis intermediários entre os grupos SK e não esclarecido, volume testicular semelhante ao da SK, e os demais dados semelhantes ao grupo não esclarecido (Tabela 1). O paciente com mosaico da SK apresentou comportamento laboratorial (LH, FSH e testosterona total) e volume testicular médio semelhante ao grupo não esclarecido, mas comprimento do pênis, estatura, envergadura e IMC semelhantes ao grupo SK (Tabela 1). Os demais casos (outras anomalias de cromossomos sexuais ou autossomos) não diferem significativamente do grupo não esclarecido.

Foi observada diferença significativa em relação à presença de ginecomastia entre os grupos SK e não esclarecido, sendo essa característica ausente no grupo não esclarecido e presente em mais da metade no grupo SK (Tabela 2). O único outro caso que apresentou ginecomastia foi o de ILA.

Tabela 2: Dado de presença de ginecomastia de 93 casos de infertilidade masculina.

Ginecomastia	SK	Não Esclarecido	Total
Ausente	6	79	85
Presente	8	0	8
Total	14	79	93

SK: Síndrome de Klinefelter

CONCLUSÕES

O estudo demonstrou que cerca de 20% dos casos de azoospermia não-obstrutiva possuem como etiologia as causas cromossômicas. Além disso, através dele foi possível confirmar que existem diferenças clínicas e laboratoriais entre os pacientes com azoospermia não obstrutiva e alterações cromossômicas em relação aos com etiologia desconhecida; essas diferenças foram mais importantes principalmente quando comparados os pacientes com SK ou DDS XX em relação aos com etiologia não esclarecida.

BIBLIOGRAFIA

- Abramsky L, Chapple J. 47,XXY (Klinefelter syndrome) and 47,XYY: estimated rates and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counselling. *Prenat Diagn* 17:363-368, 1997.
- American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. *Fertil Steril* 103:e18, 2015.
- American Urological Association. The optimal evaluation of the infertile male: AUA best practice statement. Linthicum: American Urological Association Education and Research Inc., 2010.
- Balkan M, Tekes S, Gedik A. Cytogenetic and y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with oligozoospermia and azoospermia in southeast turkey. *J Assist Reprod Genet* 25:559-565, 2008.
- Bojesen A, Gravholt CH. Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 4(4):192-204, 2007.
- Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, [Palka G](#), [Foresta C](#). Male infertility: role of genetic background. *Reprod Biomed Online* 14(6):734-745, 2007.
- Gabrich PN, Vasconcelos JSP, Damião R, Silva EA. Penile anthropometry in Brazilian children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 83(5):441-446, 2007.
- Gao X, Chen G, Huang J, Bai Q, Zhao N, Shao M, et al. Clinical, cytogenetic, and molecular analysis with 46,XX male sex reversal syndrome: case reports. *J Assist Reprod Genet* 30:431-435, 2013.
- Groth [KA](#), [Skakkebaek A](#), [Høst C](#), [Gravholt CH](#), [Bojesen A](#). Clinical review: Klinefelter syndrome – a clinical update. *J Clin Endocrinol Metab* 98(1):20-30, 2013.
- Guercio G, Rey RA. Fertility issues in the management of patients with disorders of sex development. *Endocr Dev* 27:87-98, 2014.
- Hotaling J, Carrell DT. Clinical genetic testing for male factor infertility: current applications and future directions. *Andrology* 2:339-350, 2014.
- Hughes IA, Davies JD, Bunch TI, Pasterski V, Mastroyannopoulou K, MacDougall J. Androgen insensitivity syndrome. *Lancet* 380:1419-1428, 2012.
- Katib A. Mechanisms linking obesity to male infertility. *Cent Eur J Urol* 68(1):79-85, 2015.
- Krausz C, Cioppi F, Riera-Escamilla A. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Rev Mol Diagn* 18:331-346, 2018.
- [Lee PA](#), [Nordenström A](#), [Houk CP](#), [Ahmed SF](#), [Auchus R](#), [Baratz A](#), et al. Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. *Horm Res Paediatr* 85(3):158-180, 2016.
- Louis JF, Thoma ME, Sorensen DN, McLain AC, King RB, Sundaram R, et al. The prevalence of couple infertility in the United States from a male perspective: evidence from a nationally representative sample. *Andrology* 1:741-748, 2013.
- Massart A, Lissens W, Tournaye H, Stouffs K. Genetic causes of spermatogenic failure. *Asian J Androl* 14:40-48, 2012.
- Olayemi FO. A review on some causes of male infertility. *African J Biotechnol* 9:2834-2842, 2010.

- Pelzmann DL, Hwang K. Genetic testing for men with infertility: techniques and indications. *Transl Androl Urol* 10(3):1354-1364, 2021.
- Quan Q, Li TJ, Ding XP, Wei J, Li LX, Fu L. Infertility caused by male partners with genetic defects in Sichuan province of China. *Genet Mol Res* 12:6512-6520, 2013.
- Ratcliffe S. Long-term outcome in children of sex chromosome abnormalities. *Arch Dis Child* 80:192-195, 1999.
- [Rives N, Joly G, Machy A, Siméon N, Leclerc P, Macé B](#). Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Mol Hum Reprod* 6(2):107-112, 2000.
- Rogol AD. [Human sex chromosome aneuploidies: The hypothalamic-pituitary-gonadal axis](#). *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 184(2):313-319, 2020.
- [Salbenblatt JA, Bender BG, Puck MH, Robinson A, Faiman C, Winter JS](#). Pituitary-gonadal function in Klinefelter syndrome before and during puberty. *Pediatr Res* 19(1):82-86, 1985.
- Smyth CM, Bremner WJ. Klinefelter syndrome. *Arch Intern Med* 158:1309-1314, 1998.
- Tanner JM. *Fetus into man: physical growth from conception to maturity*. Cambridge: Harvard University Press, 1989.
- Terribile M, Stizzo M, Manfredi C, Quattrone C, Bottone F, Giordano DR, et al. [46,XX testicular Disorder of Sex Development \(DSD\): a case report and systematic review](#). *Medicina (Kaunas)* 55(7):371, 2019.
- Tincani BJ, Mascagni BR, Pinto RD, Guaragna-Filho G, Castro CC, Sewaybricker LE, et al. [Klinefelter syndrome: an unusual diagnosis in pediatric patients](#). *J Pediatr (Rio J)* 88(4):323-327, 2012.
- Tournaye H, Krausz C, Oates RD. Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. *Lancet Diab Endocrinol* 5:544-553, 2017.
- Vorona E, Zitzmann M, Gromoll J, Schüring AN, Nieschlag E. [Clinical, endocrinological, and epigenetic features of the 46,XX male syndrome, compared with 47,XXY Klinefelter patients](#). *J Clin Endocrinol Metab* 92(9):3458-3465, 2007.
- Wu QY, Li N, Li WW, Li TF, Zhang C, Cui YX, Xia XY, Zhai JS. [Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46, XX testicular disorder of sex development with SRY-positive](#). *BMC Urol* 14:70, 2014.
- Yabiku [RS, Guaragna MS, Sousa LM, Fabbri-Scallet H, Mazzola TN, Piveta CSC](#), et al. A search for Disorders of Sex Development among infertile men. *Sex Dev* 2018 [Epub ahead of print].
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R et al. *The international glossary on infertility and fertility care*, 2017. *Hum Reprod* 32:1786-1781, 2017.
- Zhu YS, Imperato-McGinley JL. 5alpha-reductase isozymes and androgen actions in the prostate. *Ann N Y Acad Sci* 1155:43-56, 2009.