TRABAJOS ORIGINALES

Azoospermia y fertilización asistida: Rol de la histología testicular en el éxito de icsi

Azoospermia and assisted reproduction: Role of testicular histology in the success of ICSI

José Ignacio Vinay [1], Raúl Valdevenito [1], Cristián Palma [1], Nicolás Lecaros [3], Iván Gallegos [2], David Vantman [4], Andrea Castro [5], Martha Flórez [5], Antonio Piottante [6], Dorón Vantman [3], Hugo Veis [3]

1. Servicio de Urología, Hospital Clínico Universidad de Chile 2. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universidad de Chile 3. Facultad de Medicina, Universidad de Chile 4. Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Clínico Universidad de Chile 5. IDIMI, Universidad de Chile 6. Facultad de Medicina, Universidad Andrés Bello.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La infertilidad masculina afecta aproximadamente al 7% de los hombres, presentándose hasta el 15% de ellos con azoospermia. El conocimiento del tipo de azoospermia (obstructiva o no obstructiva) y la localización de la falla (pre-testicular, testicular o post-testicular) es vital para conocer el pronóstico de fertilidad de la pareja y plantear un plan terapéutico adecuado. Actualmente, la extracción de espermatozoides desde epidídimo o testículo de pacientes azoospérmicos, y la posterior inyección intracitoplásmática de éstos (ICSI, por sus siglas en inglés) ha permitido obtener embriones viables para su posterior transferencia.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio descriptivo retrospectivo de 42 parejas infértiles con diagnóstico de azoospermia; que se sometieron a biopsia testicular, ICSI y posterior transferencia de embriones, entre los años 2004 y 2012. Se lleva a cabo un análisis de la edad de los pacientes, resultados de la histopatología testicular y su asociación con los resultados de la fertilización asistida.

RESULTADOS: 42 pacientes azoospérmicos se sometieron a biopsia testicular y extracción de espermatozoides en el mismo acto quirúrgico. La edad promedio de los pacientes fue de 36 años para los hombres y 32 años para las mujeres. En el análisis histológico de los tejidos testiculares, el 31% de los pacientes presentaban espermatogénesis conservada (EC), el 35.7% atrofia mixta (AM), el 14.3% hipoespermatogénesis (HE), el 14.3% detención de la maduración (DM) y un 4.8% presentaba otras histologías. Lograron embarazo clínico 14 de 42 parejas (33,3%), siendo la tasa de embarazo específica por patología de 38,5% para EC, 26.7% para AM, 50% para HE, 16,7% para DM y 50% para las otras histologías. 12 de las 42 parejas realizaron más de un ciclo de transferencias.

CONCLUSIONES: La utilización de ICSI es una alternativa adecuada para parejas infértiles por factor masculino severo. Los resultados de esta técnica son favorables para la mayoría de las patologías. Los pacientes con AM presentan focos de síndrome sertoli solo y/o esclerosis tubular asociados a zonas con espermatogénesis conservada; estas últimas permiten la extracción de espermatozoides para su utilización en ICSI.

Palabras Clave: Infertilidad, Azoozpermia, Histología testicular, Inyección intracitoplásmática de espermatozoides, Espermatogénesis conservada.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Male infertility affects approximately 7% of men, presenting up to 15% with azoospermia. Knowing the type of azoospermia (obstructive or non-obstructive) and the location of the problem (pre-testicular, testicular and post-testicular) is vital to recognize the fertility prognosis of the couple and present a proper treatment plan. Currently, the extraction of sperm from epididymis or testis of azoospermic patients, and subsequent intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has yielded viable embryos for transfer. Materials and Methods: Retrospective study of 42 infertile couples diagnosed with azoospermia, who underwent testicular biopsy, ICSI and subsequent embryo transfer, between 2004 and 2012. We performed an analysis of the patients' age, testicular histopathology results and their association with assisted fertilization

outcome. Results: 42 azoospermic patients underwent testicular biopsy and sperm extraction in the same surgery. The average age of patients was 36 years for men and 32 years for women. Histologic analysis of testicular tissue showed that 31% of patients had normal spermatogenesis (NS), 35.7% mixed atrophy (MA), 14.3% hypospermatogenesis (HS), 14.3% maturation arrest (MTA) and 4.8% had other histologies. 14 of 42 couples achieved clinical pregnancy (33.3%), with a specific pregnancy rate of 38.5% for NS, 26.7% for MA, 50% for HS, 16.7% for MTA and 50% for other histologies. 12 of 42 couples underwent more than one transfer cycle.
CONCLUSIONS: The use of ICSI is a suitable alternative for infertile couples with severe male factor. The results of this technique are favorable for most histologies. Patients with MA exhibit sertoli solo syndrome and / or tubular sclerosis foci associated to regions with normal spermatogenesis, enabling the sperm extraction for ICSI.

Keywords: Infertility, Azoozpermia, Testicular histology, Intracytoplasmic sperm injection, Normal spermatogenesis.

INTRODUCCIÓN

Infertilidad se define como la incapacidad de obtener un embarazo, en una pareja sexualmente activa que no utiliza métodos anticonceptivos, a lo largo de un año. Aproximadamente el 15% de la parejas se encuentra en este grupo1. Diferentes estudios han sugerido una contribución masculina a la infertilidad de pareja entre un 45-50% de los casos1. La infertilidad masculina afecta aproximadamente al 7% de los hombres, presentándose hasta el 15% de ellos con azoospermia, es decir, ausencia de espermatozoides en el semen2.

Las técnicas de reproducción asistida (TRA), tanto de baja como de alta complejidad, han permitido subsanar parcialmente alteraciones anatómicas, hormonales y genéticas de las parejas infértiles. Sin embargo, existe un grupo específico de parejas con un factor masculino severo que sólo podrán obtener un embarazo exitoso utilizando TRA de alta complejidad.

Las causas de azoospermia se pueden clasificar en obstructivas o no obstructivas. El adecuado estudio etiológico de estos pacientes es vital para conocer el pronóstico de fertilidad de la pareja y plantear un plan terapéutico adecuado3. Un gran número de estos pacientes terminarán sometiéndose a estudio histológico testicular asociado a alguna técnica de recuperación de espermatozoides, tales como aspiración de espermatozoides desde epidídimo o extracción de espermatozoides desde testículo3.

En diversos estudios se ha presentado la relación entre las causas de infertilidad masculina y la probabilidad de obtener descendencia a través de TRA1. En este estudio, se pretende demostrar la relación que existe entre la histología testicular y los resultados de fertilidad de pacientes azoospérmicos sometidos a inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, por sus siglas en inglés).

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo retrospectivo. La población a estudiar corresponde a parejas de pacientes clasificadas como infértiles (bajo la definición de OMS, previamente presentada), con diagnóstico de azoospermia, atendidos en la Unidad de Infertilidad del Hospital Clínico de la Universidad de Chile entre 2004 y 2012.

De todas las parejas que consultaron por infertilidad entre los años 2004 y 2012, sólo 58 obtuvieron el diagnóstico de azoospermia. De estas parejas, 42 continuaron el estudio y se sometieron a biopsia testicular asociada a extracción de espermatozoides en el mismo acto quirúrgico.

La extracción de espermatozoides se llevó a cabo por un urólogo del Servicio de Urología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile a través de dos técnicas: Aspiración desde epidídimo y/o extracción desde testículo. En forma contemporánea, las muestras fueron analizadas por una bióloga de la unidad de infertilidad, finalizando cada intervención cuando ésta informara la suficiencia de la muestra. Se llevó a cabo recuperación de ovocitos de las parejas de estos pacientes, y posterior ICSI. Se realizó seguimiento de las pacientes por el equipo de infertilidad del Servicio de Ginecología y Obstetricia. Se definió "embarazo bioquímico" como un resultado de beta-HCG mayor a 5mIU/ml entre la semana 1 a 3 de embarazo y "embarazo clínico" como la presencia de saco gestacional y latidos cardiofetales a través de ecografía.

La información fue obtenida a partir de una revisión sistemática de fichas clínicas de los servicios de Ginecología y Obstetricia, Urología y Anatomía Patológica. Los datos fueron traspasados desde las fichas clínicas del hospital a una hoja de registro en forma contemporánea y posteriormente a una base Excel para posterior análisis.

Se desarrolló una tabla Excel resumiendo los datos de tipo individual en distintas variables, tales como: Edad, histología, presencia de embarazo bioquímico, embarazo clínico y número de intentos de fertilización asistida; para luego presentarlos a través de porcentajes y promedios. Se lleva a cabo un análisis de la edad de los pacientes, resultados de la histopatología testicular y su asociación con los resultados de la fertilización asistida.

RESULTADOS

Del total de parejas que consultaron por infertilidad en el período estudiado, se obtuvo el diagnóstico de azoospermia en 58 de ellas. De los 58 pacientes azoospérmicos, 42 se sometieron a biopsia testicular y recuperación de espermatozoides para ICSI.

La edad promedio de las mujeres fue de 32.2 años, mientras que la de los hombres fue de 35.5 años. Estos grupos presentan una desviación estándar de 4.6 y 7.5 años respectivamente. La distribución de edad de consulta según sexo muestra una mediana de 32 años para mujeres y 35 años para hombres

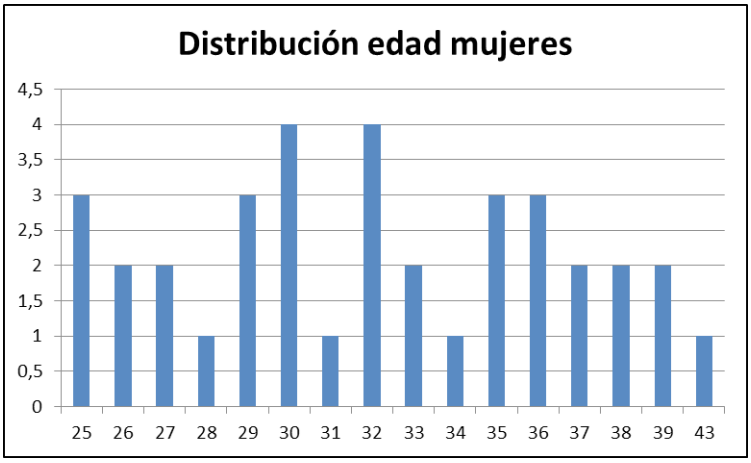

Gráfico 1: Distribución edad pacientes mujeres

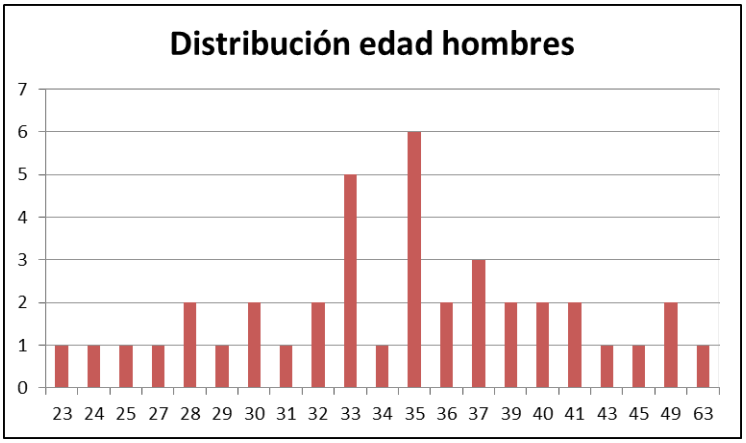

Gráfico 2: Distribución edad pacientes hombres

(gráficos 1 y 2).

En relación a la histología testicular de los 42 pacientes biopsiados, el uro-patólogo informó que un 31% de los pacientes presentaban espermatogénesis conservada (EC), el 35.7% atrofia mixta (AM), el 14.3% hipoespermatogénesis (HE), el 14.3% detención de la maduración (DM) y un 4.8% presentaba otras histologías, que correspondieron a un caso de seminoma y un caso de hidátide testicular (gráfico 3).

Respecto a los resultados de la transferencia de embriones, se obtuvieron 15 embarazos bioquímicos y 14 embarazos clínicos, representando un porcentaje de embarazos de 35.7% y 33.3% del total de parejas, respectivamente.

De las 42 parejas estudiadas, 12 tuvieron que someterse a 2 o más ciclos de transferencia de embriones para conseguir embarazo, lo que corresponde a un 28.6% de las parejas.

Al relacionar, la histo-patología testicular con los resultados de ICSI, se evidencia que la tasa de éxito de embarazo clínico según histología es de 27% para AM, 17% para DM, 38% para EC, 50% para HE y 50% para las otras patologías (gráfico 4).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al enfrentarse a un paciente azoospérmico, es necesario conocer las entidades clínicas que pueden estar detrás de este trastorno. Sólo de esta forma se podrá llevar a cabo un estudio coherente y costo-efectivo, para posteriormente comunicar a la pareja de las reales posibilidades de alcanzar un embarazo exitoso. El estudio especializado debe ser solicitado en relación a la información que se obtenga en la anamnesis, examen físico, espermiograma y medición de hormonas sexuales4.

Si en el examen físico se observan testículos pequeños, y en el espermiograma destaca un volumen de eyaculado mayor a 1 mL asociado a pH mayor de 7 es probable que se esté frente a una azoospermia no obstructiva. Los valores de FSH, LH y testosterona ayudarán a localizar la falla a nivel pre-testicular o testicular6.

Si la FSH, LH y testosterona se encuentran disminuidas, se está enfrentando a un hipogonadismo hipogonadotrófico, por lo que el estudio debe continuar en relación a descartar posibles causas de este cuadro, tales como síndrome de Kallmann, alteraciones hipofisiarias, hipotalámicas, entre otras3,6.

Si los niveles de FSH y LH se encuentran elevados, se debe asumir una falla testicular. Este hipogonadismo hipergonatrófico puede tener múltiples causas. Diversas guías de infertilidad aconsejan solicitar cariotipo y microdeleciones del cromosoma Y a estos pacientes. Alteraciones de estos exámenes tendrán repercusiones en la posibilidad de éxito de futuras

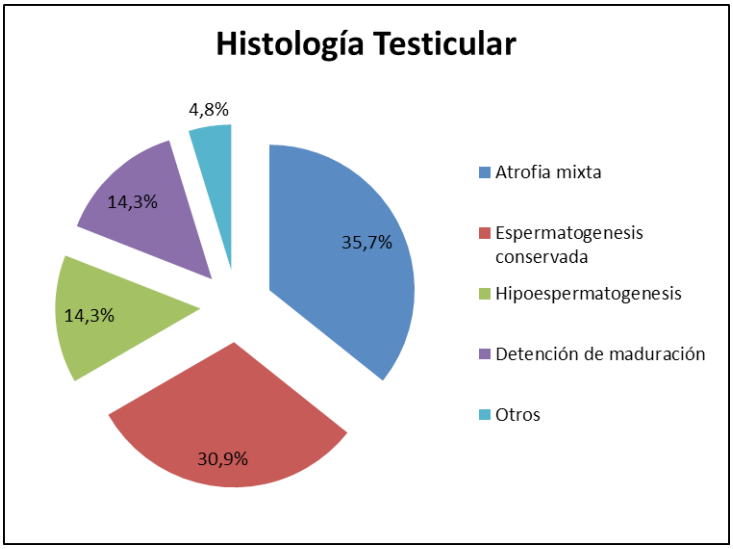

Gráfico 3: Resultados de biopsias testiculares

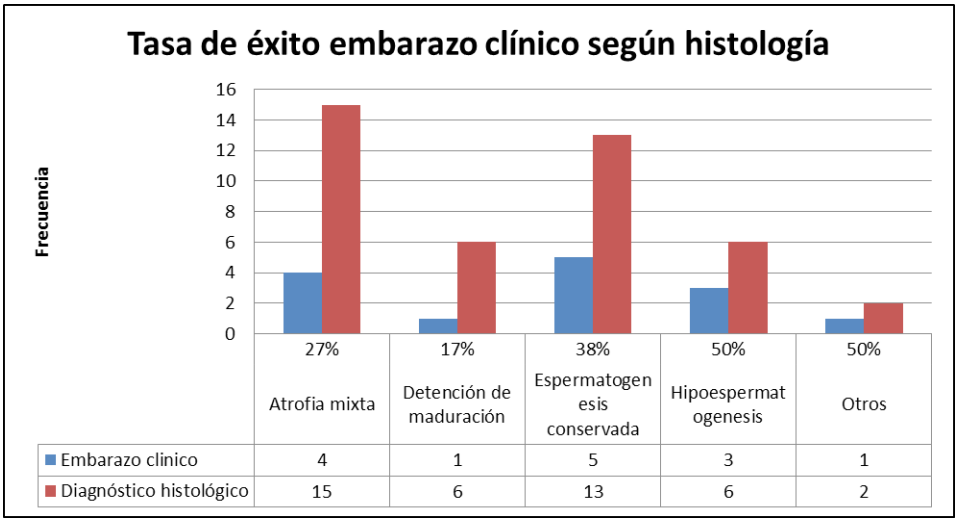

Gráfico 4: Tasa de éxito de embarazo clínico según histología testicular

TRA y en el potencial de fertilidad de los descendientes3,6,7. Si en el estudio básico se objetivan testículos mayores a 15 mL, con epidídimos aumentados de tamaño, niveles hormonales normales y un espermiograma con volumen eyaculado menor a 1 mL asociado a un pH menor a 7, es necesario descartar una azoospermia obstructiva1,3. Se deben palpar cuidadosamente los testículos en búsqueda de los conductos deferentes, si éstos no están presentes, el diagnóstico más probable es la ausencia congénita bilateral de los conductos deferentes. El 80% de estos pacientes son portadores de mutaciones del gen de fibrosis quística. Se debe solicitar el estudio genético en todos los pacientes en que se sospeche este diagnóstico8.

En los casos de azoospermia obstructiva con conductos deferentes presentes, se debe buscar la obstrucción en otra localización. Algunos cuadros que pueden presentarse de esta forma son la obstrucción de los conductos eyaculadores, la obstrucción de la rete testis, el síndrome de Young, obstrucciones epididimarias o de los conductos deferentes, entre otras entidades5,9.

En este estudio se observa que casi un tercio de los pacientes sometidos a biopsia y recolección de espermatozoides presentaba espermatogénesis conservada en el estudio histológico (gráfico 3). Es probable que la mayoría de estos pacientes sean portadores de una azoospermia obstructiva, es decir, no exista una falla en el desarrollo de los gametos, sino que en el transporte de ellos. Esta aseveración es compatible con los resultados de ICSI, ya que los pacientes de este grupo tienen una alta tasa de embarazos clínicos (gráfico 4). Los resultados del espermiograma, examen físico, apoyo ecográfico y estudios genéticos serían de utilidad para comprobar la obstrucción en estos pacientes10. Las técnicas de recolección de gametos asociadas a ICSI, en este tipo de parejas, tienen resultados satisfactorios, tanto en la literatura internacional como en el estudio actual11.

Se debe destacar que la presencia de mutaciones del gen de fibrosis quística (en el contexto de ausencia congénita bilateral de los conductos deferentes) está asociada a un

riesgo no bien precisado (debido a los diferentes grados de penetrancia de la mutación) de transmitir esta alteración a la descendencia5,12. Por lo que se debe llevar a cabo un consejo genético a las parejas afectadas.

El potencial de fertilidad de los pacientes con alteraciones en la línea germinal (AM, HE y DM) que se someten a TRA depende de diversos elementos, destacándose: La cantidad de focos de espermatogénesis conservada y las alteraciones genéticas asociadas.

Aproximadamente el 8-12% de los pacientes azoospérmicos presentan microdeleciones del cromosoma Y, es decir, deleciones en las regiones AZF que codifican para proteínas vitales para la espermatogénesis5. AZF tiene tres zonas susceptibles de ser alteradas, AZFa, AZFb y AZFc. La primera y segunda están asociadas con síndrome de sertoli solo y detención de la espermatogénesis. Si se está frente a deleciones clásicas de estas 2 regiones, no será posible obtener espermatozoides viables para TRA5,13-15.

Por otro lado, deleciones de la región AZFc se asocian a fenotipos variables, desde oligozoospermia a azoospermia; todos susceptibles a una recuperación exitosa de gametos. En este caso, el consejo genético es obligatorio, porque invariablemente se transmitirá esta mutación a los hijos hombres del paciente5.

En este estudio, se pudo obtener espermatozoides de todos los pacientes sometidos a cirugía, debido a que no existieron casos con ausencia completa de línea germinal, como puede ser el caso del síndrome de sertoli solo clásico o la detención completa de la espermatogénesis4,5. En todos los pacientes se pudo encontrar zonas con espermatozoides viables. El grupo de AM presentaba focos de síndrome sertoli solo y/o esclerosis tubular asociados a zonas con espermatogénesis conservada.

Los peores resultados se encontraron en los pacientes con AM y DM. Estos resultados son comparables a lo encontrado en otros estudios. Precisamente estos pacientes son los que pueden poseer alteraciones genéticas que alteran el resultado final de la espermatogénesis14,15. Los gametos pudieran tener aspecto y movilidad normal a la microscopía, pero pueden poseer alteraciones genéticas o epigenéticas que alteran el desarrollo normal del embrión.

Por último, las mejores tasas de fertilidad se observaron en el grupo representado por un seminoma y una hidátide testicular. Estos pacientes no poseían alteraciones en la gametogénesis, por lo tanto las zonas no comprometidas por el tumor o por la hidátide presentaban espermatogénesis normal. Debe haber existido un factor obstructivo asociado, que llevó a estos pacientes a presentarse con azoospermia.

En conclusión, el tipo de azoospermia (obstructiva vs no obstructiva) y la histología testicular asociada, juegan un rol vital en el pronóstico de fertilidad de los pacientes. Un estudio racional y costo-efectivo puede delimitar las posibilidades diagnósticas de forma eficiente para plantear un plan terapéutico realista.

Existen elementos no presentados en el estudio actual que deben ser tomados en cuenta para describir de forma más precisa el cuadro clínico de estos pacientes. Los valores del espermiograma, FSH, LH y testosterona, cariotipo y microdeleciones del cromosoma Y deben ser considerados como variables importantes. Futuros estudios podrán definir su real valor en el pronóstico de fertilidad de los pacientes azoospérmicos sometidos a ICSI.

BIBLIOGRAFÍA

World Health Organisation. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2000.

Csilla Krausz. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011 Apr;25(2):271-85

Oates R. Evaluation of the azoospermic male. Asian J Androl. 2012 Jan;14(1):82-7.

Sandro C. Esteves, Ricardo Miyaoka, Ashok Agarwal. An update on the clinical assessment of the infertile male. CLINICS 2011;66(4):691-700

Andreas Jungwirth, Aleksander Giwercman , Herman Tournaye , Thorsten Diemer, et al. European Association of Urology Guidelines on Male Infertility:

The 2012 Update. EUROPEAN UROLOGY 6 2 (2012) 324–332

Bonomi M, Libri DV, Guizzardi F, Guarducci E, et al. The Idiopathic Central Hypogonadism Study Group of the Italian Societies of Endocrinology and Pediatric Endocrinology and Diabetes. New understandings of the genetic basis of isolated idiopathic central hypogonadism. Asian J Androl 2012; 14: 49–56

Lopushnyan NA, Walsh TJ. Surgical techniques for the management of male infertility. Asian J Androl 2012; 14: 94–102

Oates RD, Amos JA. The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. J Androl 1994;15:1–8.

Meacham RB, Hellerstein DK, Lipshultz LI. Evaluation and treatment of ejaculatory duct obstruction in the infertile male. Fertil Steril 1993;59:393–7.

Peter J. Stahl, Doron S. Stember, Marc Goldstein. Contemporary Management of Male Infertility. Annu. Rev. Med. 2012. 63:525–40.

Halliday J. Outcomes for offspring of men having ICSI for male factor infertility. Asian J Androl. 2012 Jan;14(1):116-20

De Braekeleer M, Ferec C. Mutations in the cystic fibrosis gene in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. MolHum Reprod 1996;2:669–77

Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. Int J Androl 2004;27:240–9.

Choi J, Chung P, Veeck L, Mielnik A, et al. AZF microdeletions of the Y chromosome and in vitro fertilization outcome. Fertil Steril. 2004;81:337-41

Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, et al. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. Hum Reprod. 2003;18:1660-1665