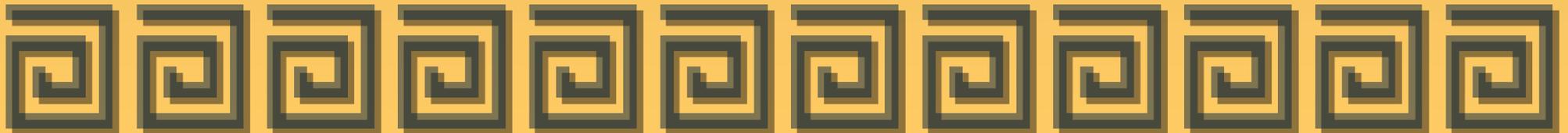


# Esterilidade e Infertilidade

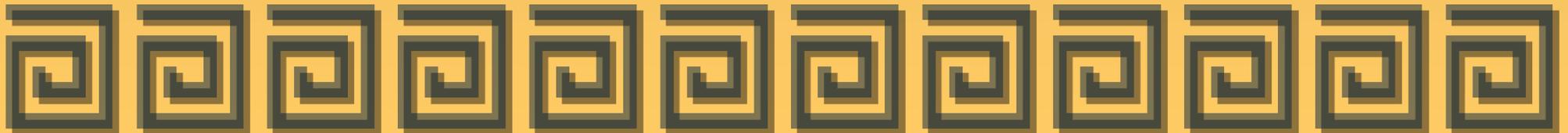
## 1. Conceitos:

- ◆ Esterilidade – casais que mantêm relações sem proteção durante no mínimo um ano (antes 2 anos) e não há gravidez.
- ◆ Infertilidade – casais em que há gravidez mas não nascem filhos vivos ( incluem os abortamentos e natimortalidade).
- ◆ Hoje a tendência é não distinguir os termos e chamar tudo de INFERTILIDADE, a qual seria subclassificada em Primária (sem gravidez-67-71%) ou Secundária (com gravidez, independente da evolução-29-33%).



# Frequência da Infertilidade

- ◆ 1 em cada 10 casais.
- ◆ 50% são devidas a fatores masculinos, sendo 30% estrito ao homem e 20% a ambos.
- ◆ É uma síndrome multifatorial.



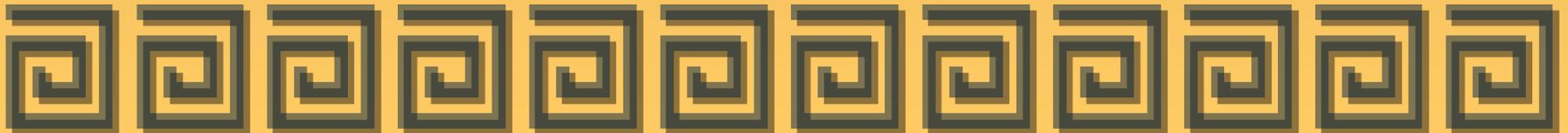
# Infertilidade Masculina

Classificação quanto ao nível da  
patogenia:

a) Pré-Gonadal

b) Gonadal

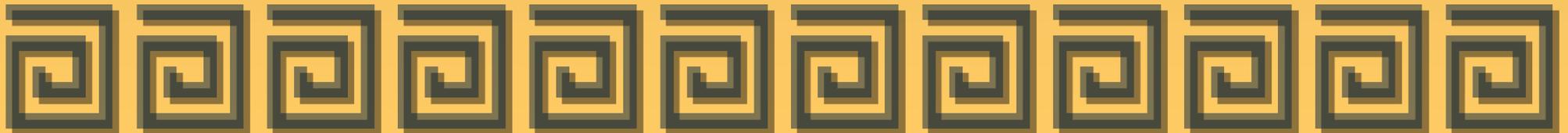
c) Pós-Gonadal ou Obstrutiva



# Estudo de amostra no HCRP (gonadal e pós-gonadal)

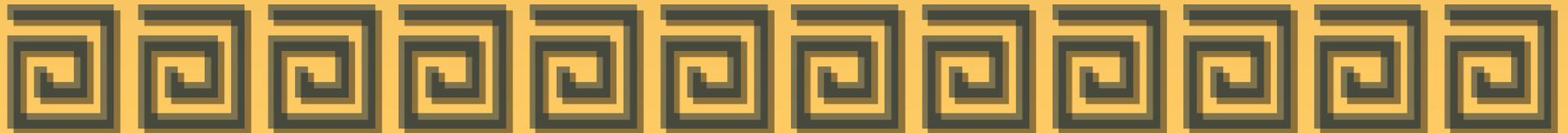
**65 casos (93%) - Esterilidade Testicular**

**5 casos (7%) - Esterilidade Pós-Testicular**



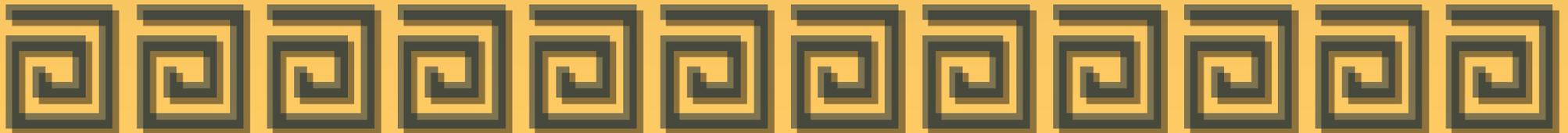
# Achados relativos a Fatores Não Genéticos

Caso	Achados relevantes
I-2	Trauma escrotal e parotidite com acometimento testicular
I-7	Hanseniose Virchoviana
I-8	Orquite bilateral com atrofia e varicocele
I-13	Trauma escrotal
I-31	Orquite granulosa por Baar – Tuberculose
I-34	Trauma escrotal com edema testicular à direita
I-46	Quimioterapia para Linfoma de Hodgkin
I-47	Cirurgia de varicocele e orquite a esquerda
I-48	Tuberculose testicular e Hanseniose Virchoviana
I-50	Varicocele e edemas testiculares



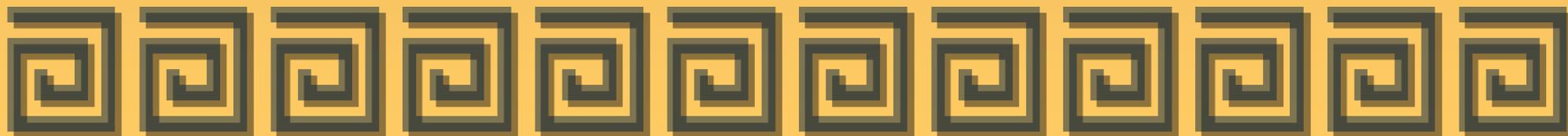
# Fatores Ambientais provavelmente relacionados a Esterilidade Masculina

- ◆ 1. Exposição a Agentes Tóxicos: Cádmio, Mercúrio, Bisfenol A, Dioxina (reduzem o número e a qualidade). Há dados sobre FUMO.
- ◆ 2. Infecções, principalmente gram negativas (tuberculose, hanseníase), parotidite, etc.
- ◆ 3. Varicocele ( seria a mais frequente ; 37% Paterson,2006).
- ◆ 4. Traumas testiculares.
- ◆ 5 Radioterapia e Quimioterapia.



# Resultado dos Espermogramas

<b>DIAGNÓSTICO</b>	<b>Nº Casos (%)</b>	<b>Variação do N° de espermatozóides/ml (x 10<sup>6</sup>)</b>
<b>AZOOSPERMIA</b>	<b>32 (45,7)</b>	<b>0</b>
<b>OLIGOASTENOZOOSPERMIA GRAVE</b>	<b>46 (51,5)</b>	<b>0,1 – 4</b>
<b>OLIGOASTENOZOOSPERMIA</b>	<b>1 (1,4)</b>	<b>13</b>
<b>ASTENOZOOSPERMIA</b>	<b>1 (1,4)</b>	<b>93</b>



# AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA

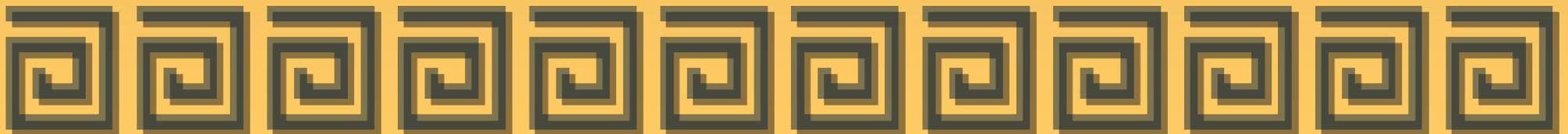
## *Somática & Germinativa*



### ★ AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA SOMÁTICA

☞ Cultura Temporária de Linfócitos (Técnica de Macro-Cultura - Moorhead et al., 1960)

☞ *Análise Cromossômica*: 100 metáfases por paciente (GTG)



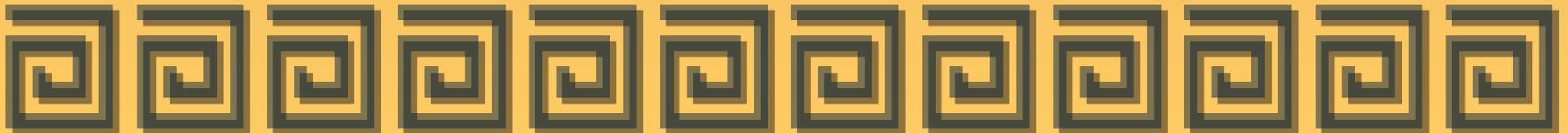
# RESULTADO DA AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA

## ▣ Avaliação Citogenética Somática

▣ 8,6 % anomalias cromossômicas somáticas

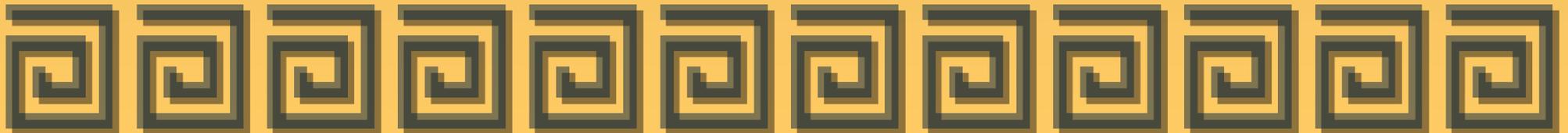
CASOS	Cariótipos anormais
I-9	46,XY(90%)/47,XY,+i(22p)(10%)
I-26	46,XY(97%)/47,XXY(3%)
I-27	45,XY,rob(13q;14q)
I-52	46,XX(52%)/47,XXY(48%)
I-54	47,XXY
I-58	47,XXY

5,7% Síndrome  
de Klinefelter



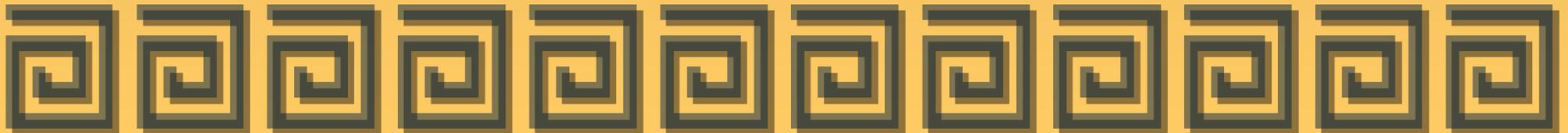
# Pina-Neto et al., 2006 Braz.J.Med Biol Res.

- ◆ Estudo Citogenético em 165 pacientes: 16 com anom. somáticas = 9.6%, sendo  $12/60 = 20\%$  nos azoospérmicos e  $4/100 = 4\%$  nos oligospérmicos.
- ◆ Tipos de Anomalias:
  - S. de Klinefelter =  $10/165 = 6\%$ , sendo 3 mosaicos, sendo todos nos azoospérmicos ( $10/60 = 15.3\%$ ). Os outros 2 dos azoosp. foram um 46,XX e mosaico 45,X(11)/46, X,del(Y) 13 STS.

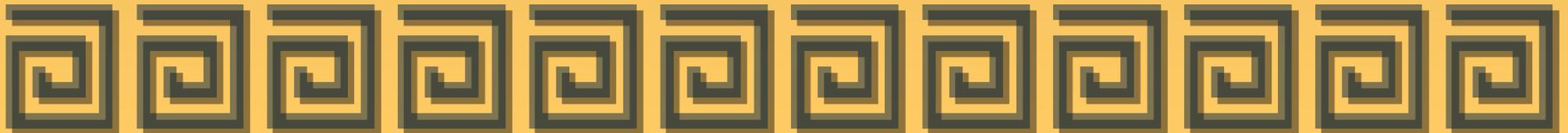
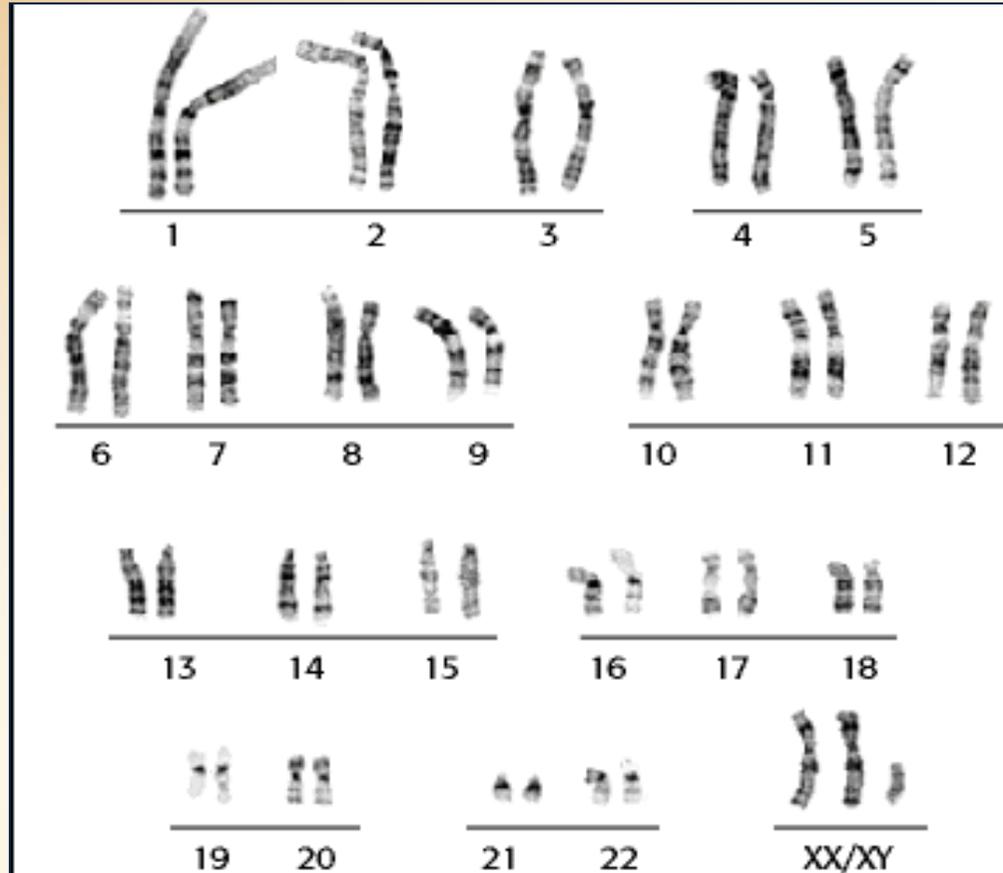


# Pina-Neto et al., 2006

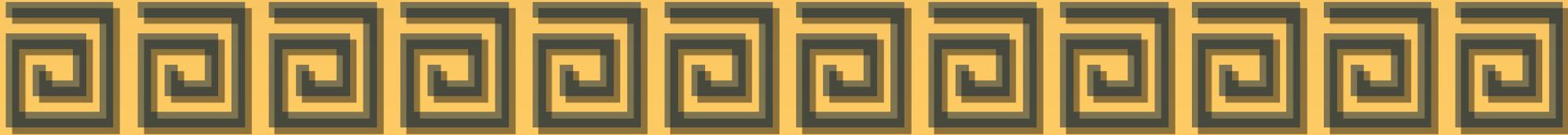
- ◆ Grupo Oligospérmico – 4 casos sendo 3 translocações equilibradas Robertsonianas (2 13q,14q e 1 14q,21q) e 1 caso 46,X, del(Y) 1 STS.



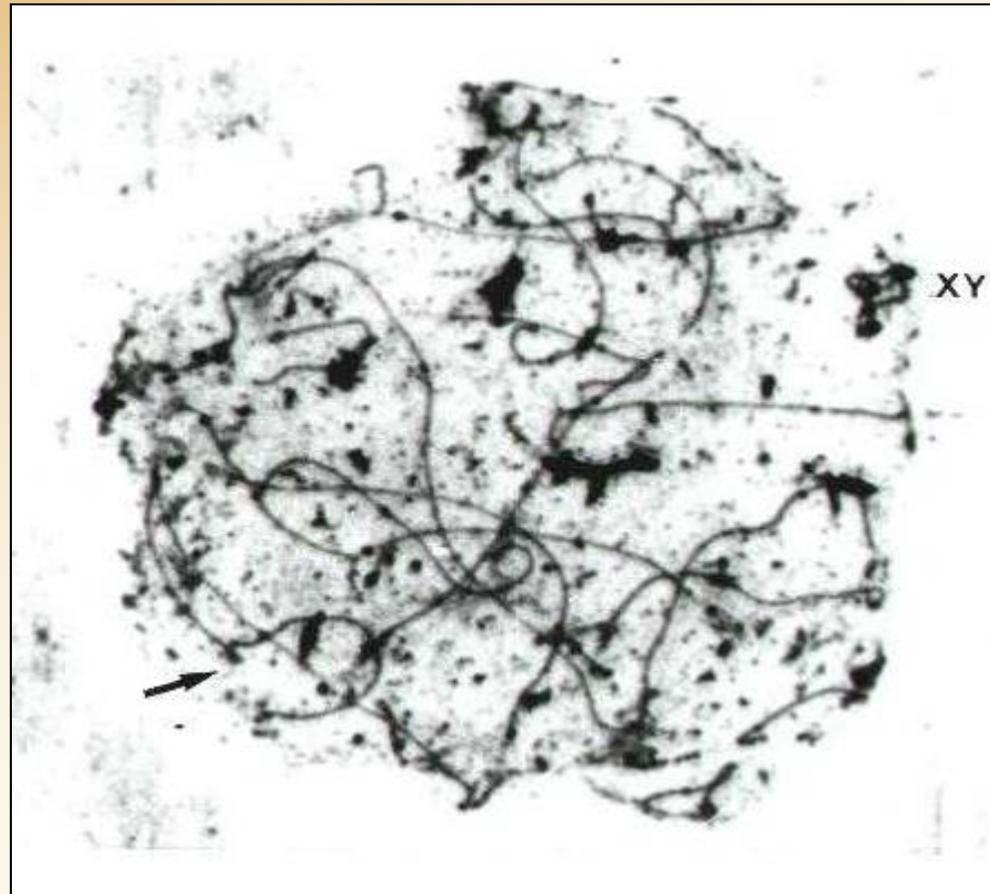
# Síndrome de Klinefelter - 47,XXY



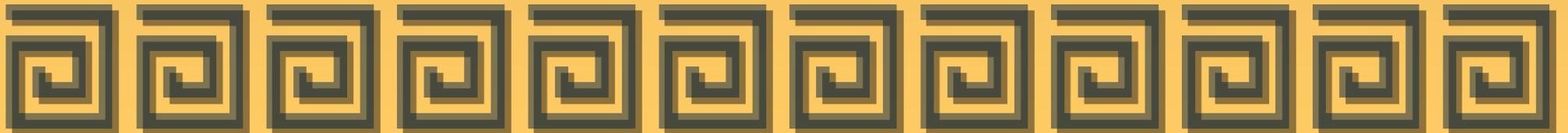
Diagnóstico Citogenético: 45,XX,der(14;21)



# Complexo sinaptonêmico do caso I-27



**45,XY,rob(13q;14q)**



# ✦ AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA GERMINATIVA

## **Análise dos cromossomos meióticos**

☞ Técnica de obtenção de cromossomos meióticos em biópsia testicular (Evans et al., 1964)

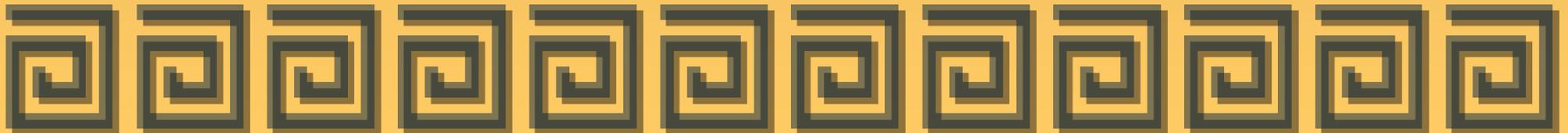
☞ *Análise Cromossômica*: PI, MI e MII - MII/MI

☞ *Nomenclatura*: ISCN (1995)

## **Análise do complexo sinaptonêmicos**

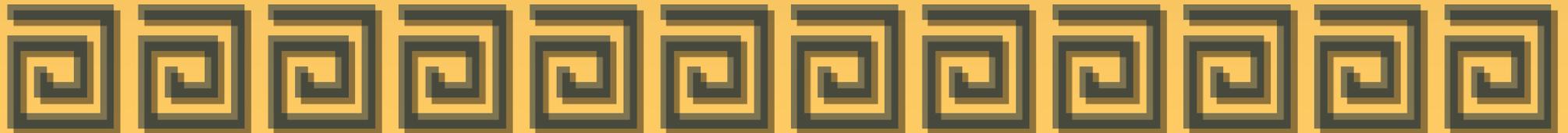
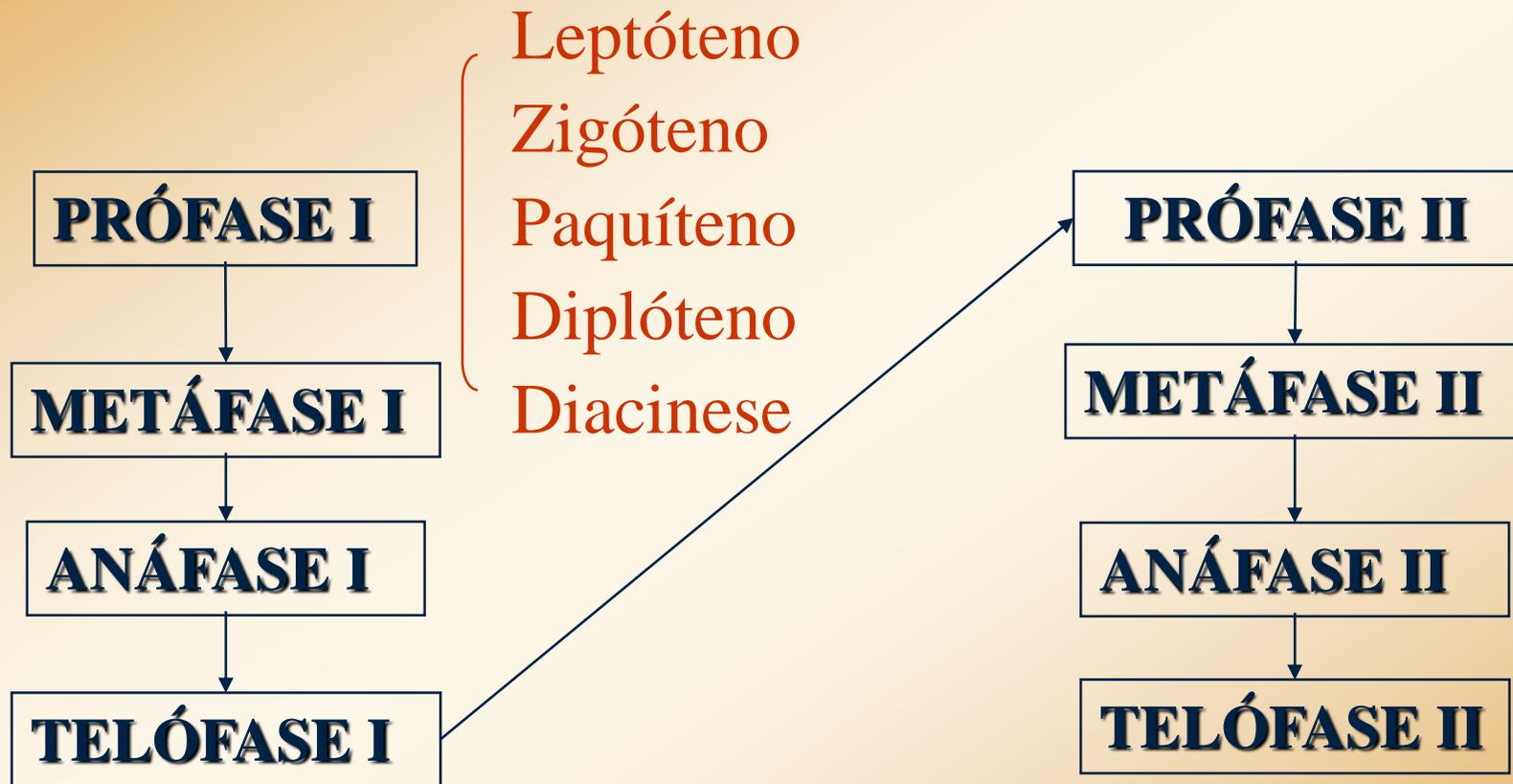
☞ Técnica de obtenção de complexos sinaptonêmicos em biópsia testicular (Navarro et al., 1981)

☞ *Análise*: Microscopia óptica

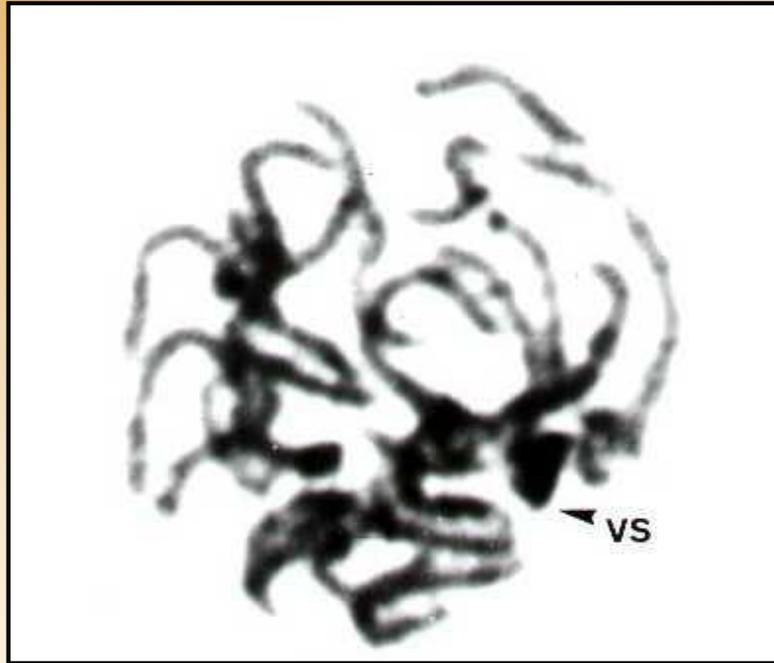


# MEIOSE I

# MEIOSE II



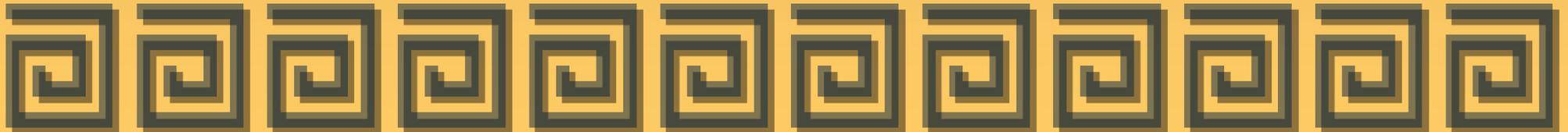
# Análise das células germinativas

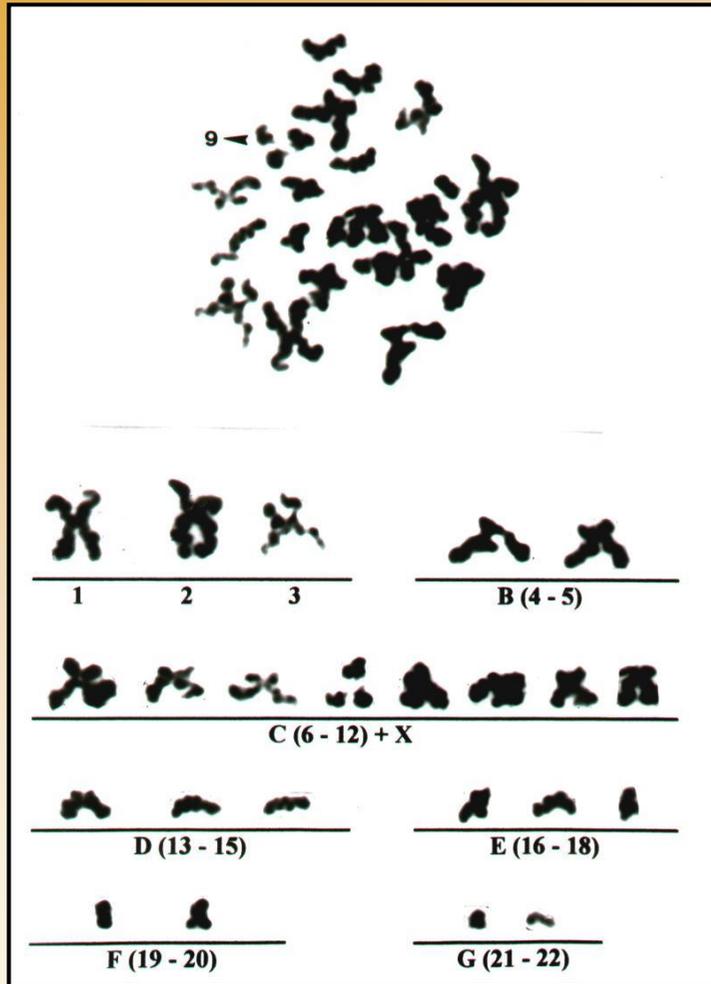


**Paquíteno (PI)**

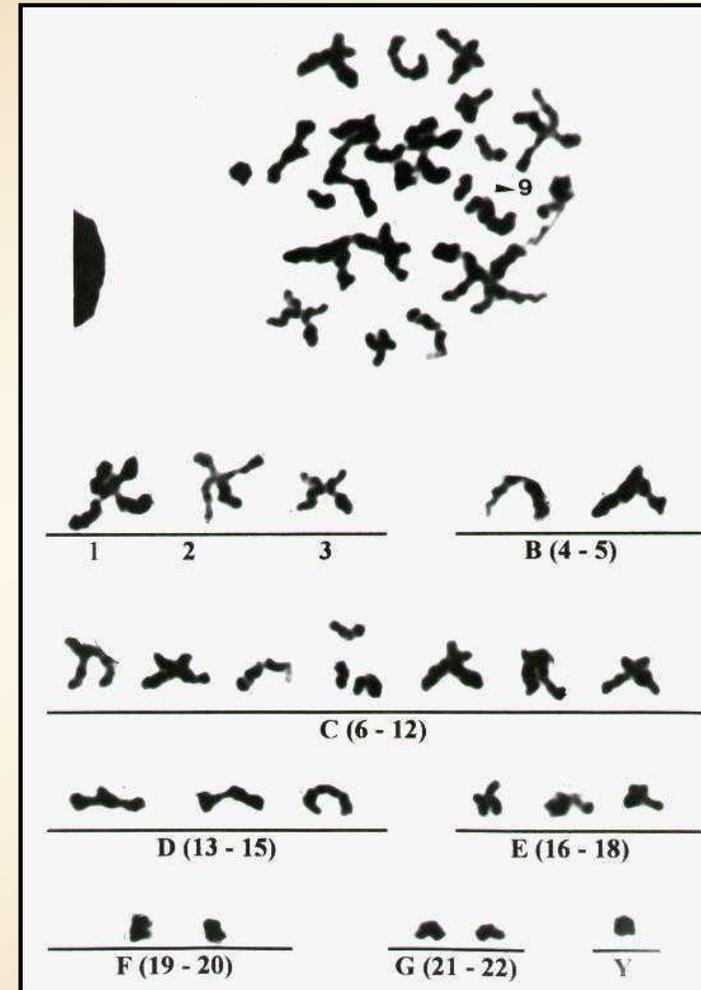


**Metáfase I (MI,23,XY)**

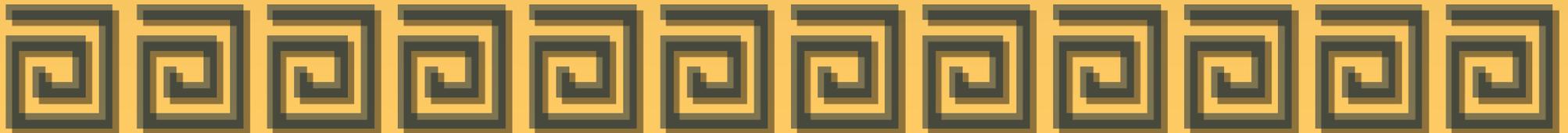




Metáfase II (MII,23,X)

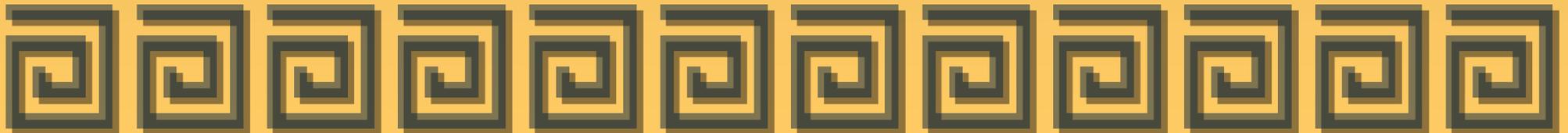
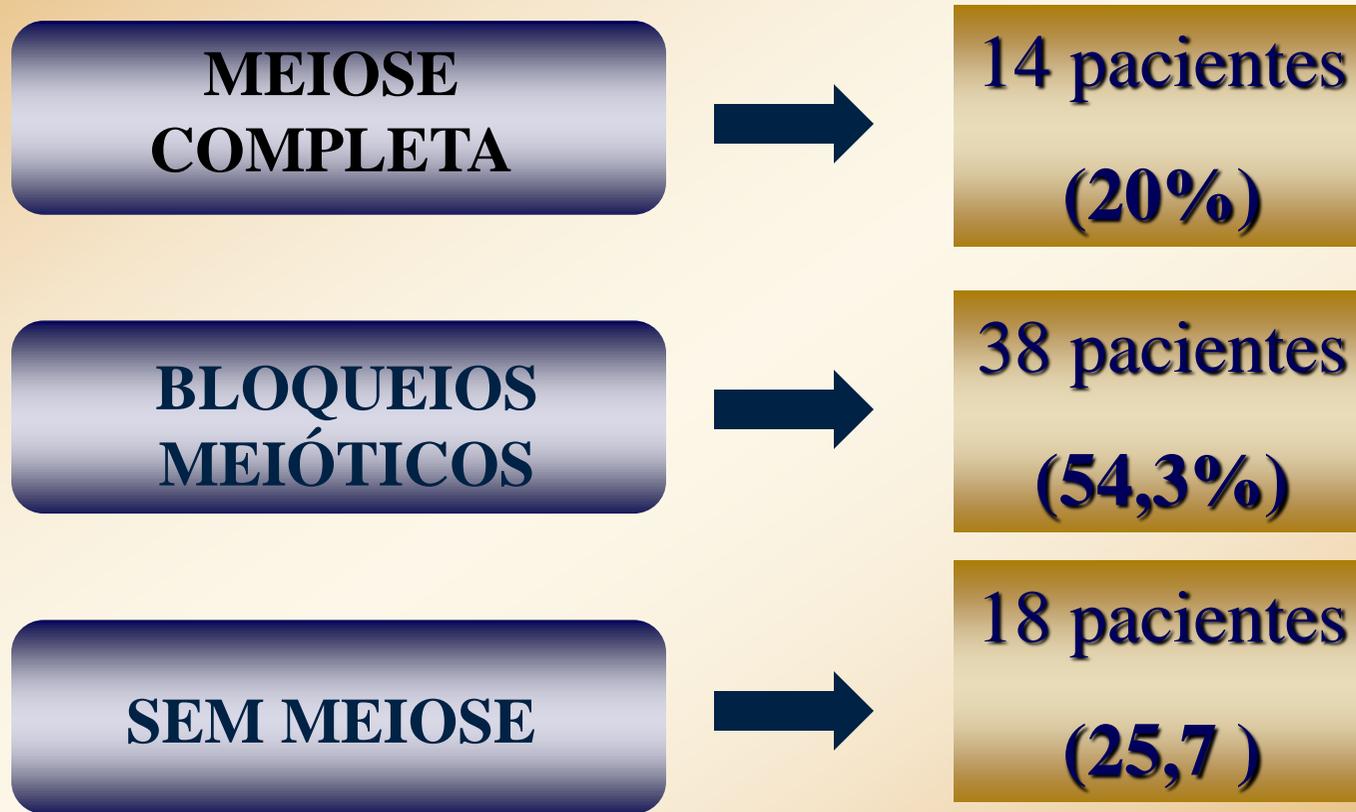


Metáfase II (MII,23,Y)



## Resultado da Avaliação Citogenética Germinativa

**Atividade meiótica dos indivíduos estudados:**



# Anomalias Sinápticas



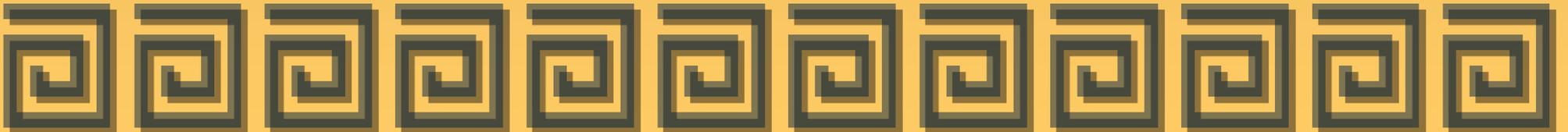
7,1%

**DISSINAPSE PARCIAL**

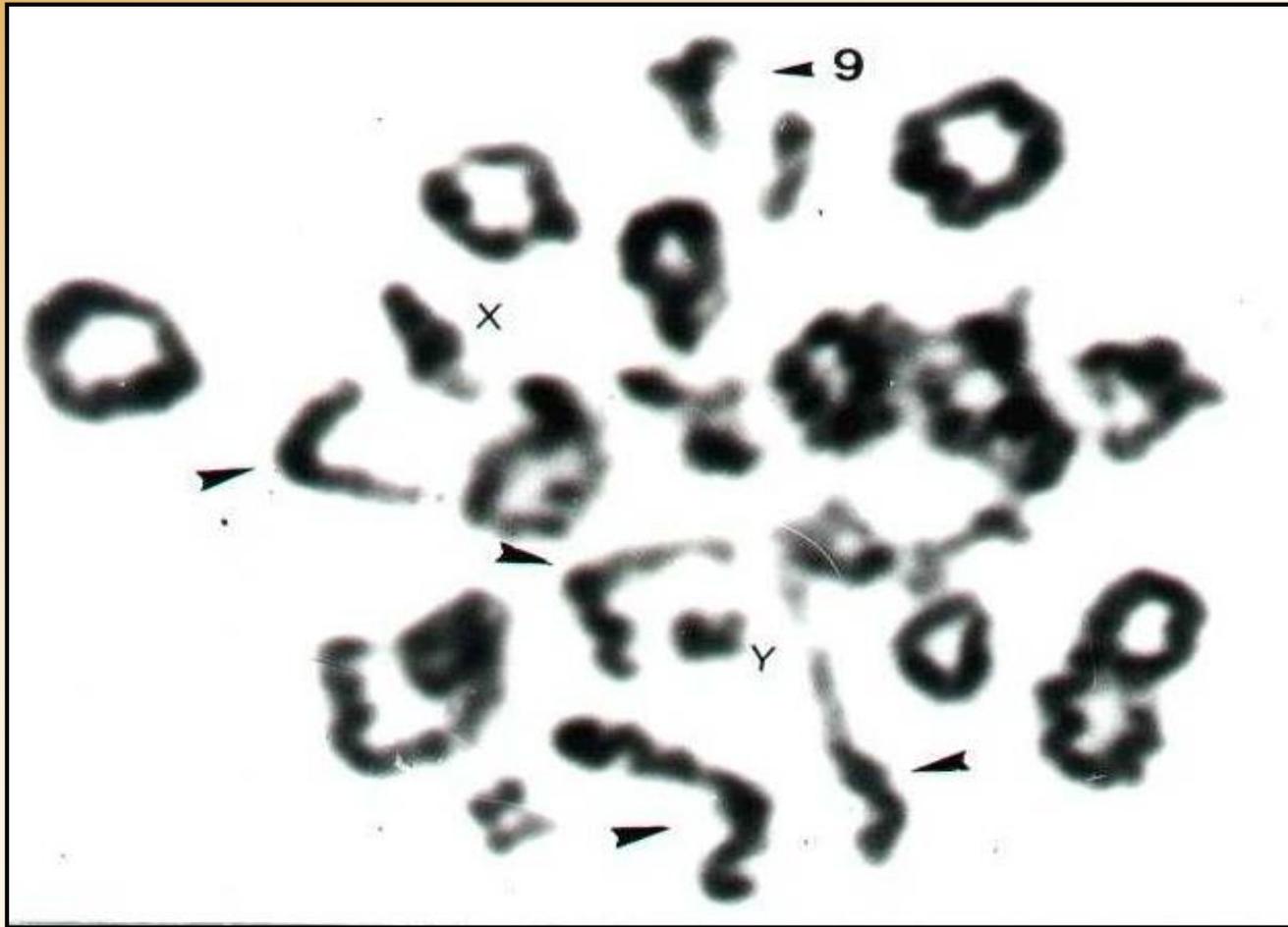


**COMPLETA**

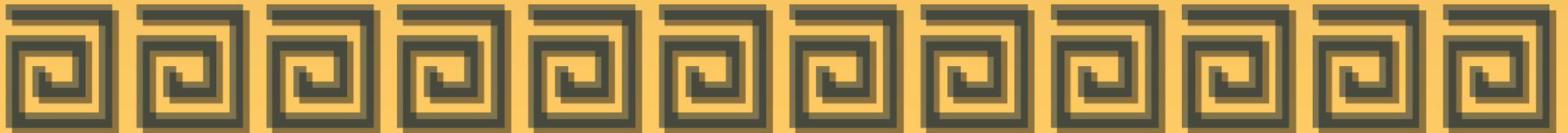
**INDIVIDUAL**



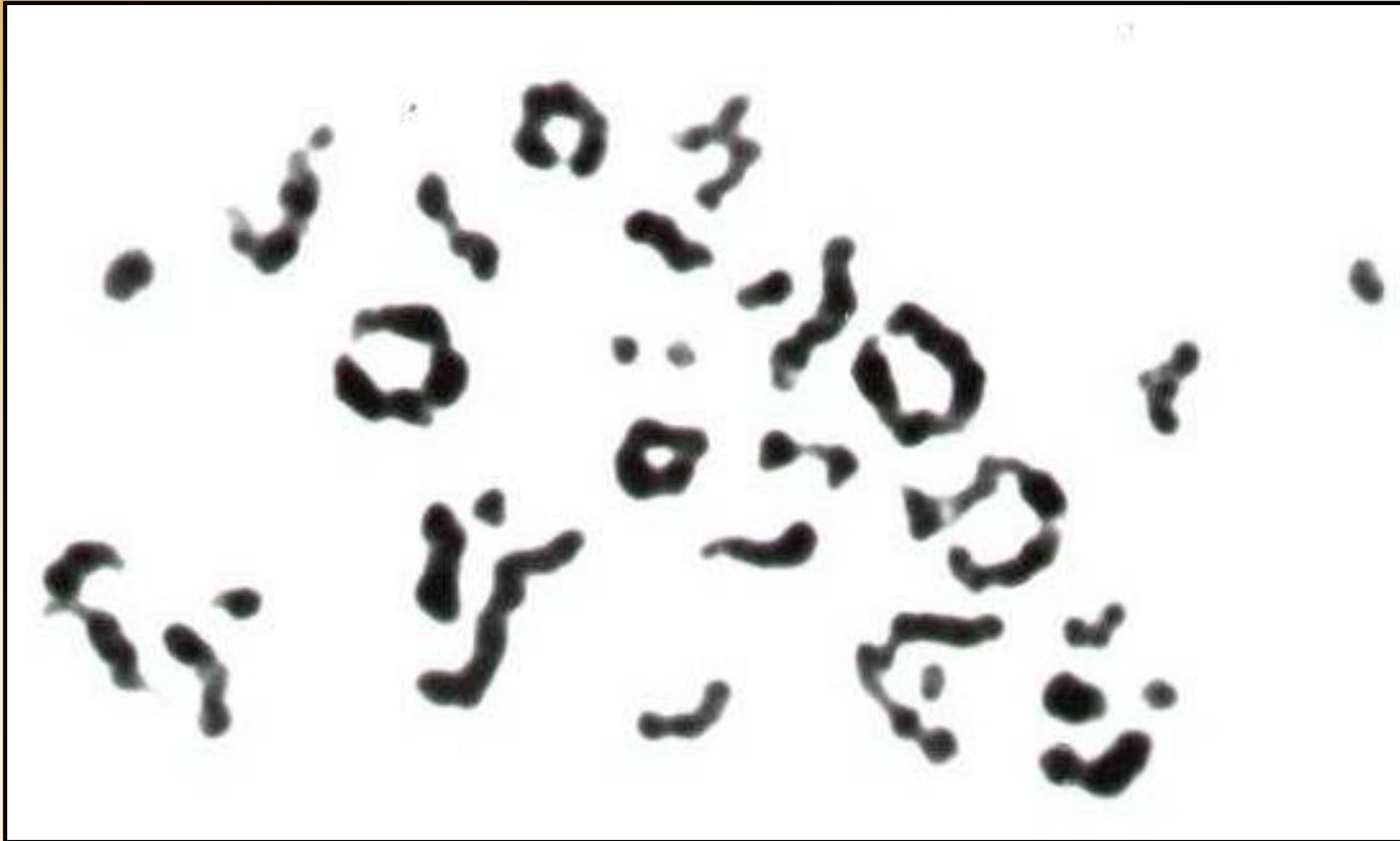
# CASO I-3



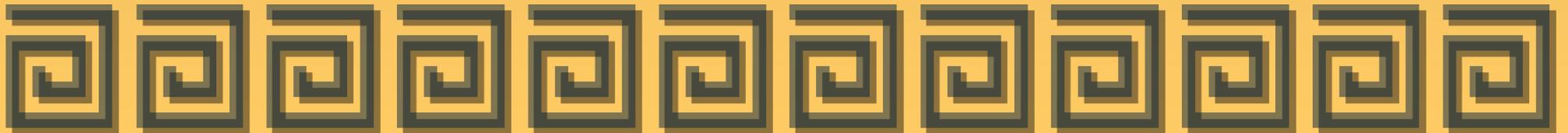
MI,24,X,Y

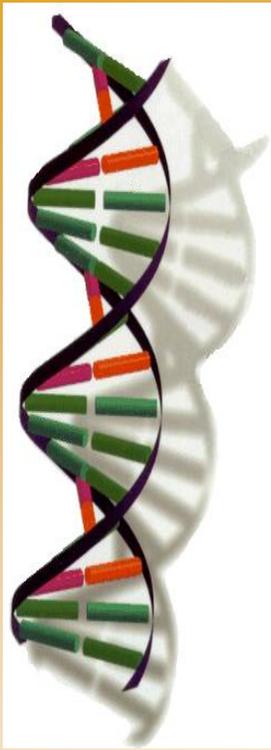


## CASO I-36



**MI, $>23$ ,XY - Dissinapse completa**





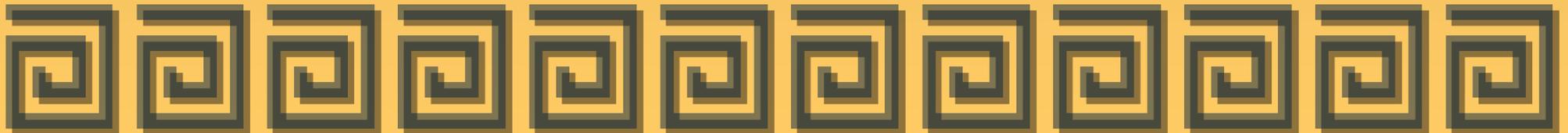
# ANÁLISE MOLECULAR

60 pacientes → 56 casos com esterilidade testicular  
→ 4 casos com esterilidade pós-testicular (CAVD)

▣ **Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética da Universidade de Campinas (CBMEG-UNICAMP)**

▣ **Laboratório Genetika - Curitiba - PR**

▣ *Material:* DNA genômico obtido de sangue periférico (Owerbach et al., 1990)



# Análise Molecular dos Genes AZF

## ▲ ANÁLISE DAS MICRODELEÇÕES

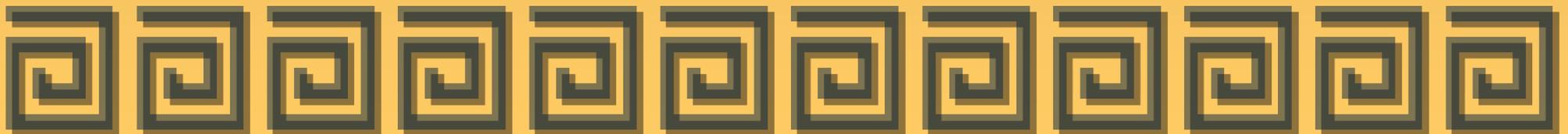
📄 PCR multiplex - 28 STSs (*Sequence Tagged Sites*) → 5 reações (Mix) (Henegariu et al., 1994)

📄 Ausência de amplificação de um ou mais STSs → PCR isolado para cada um dos STSs não amplificados

## ▲ RASTREAMENTO DE MUTAÇÕES

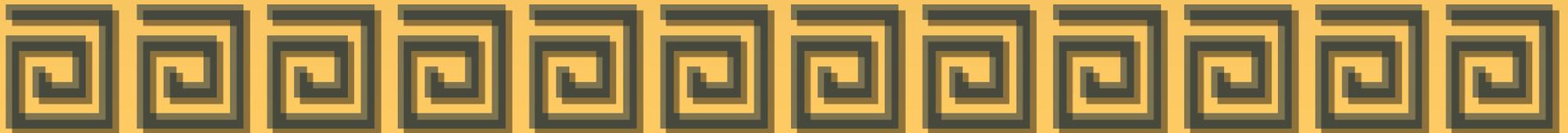
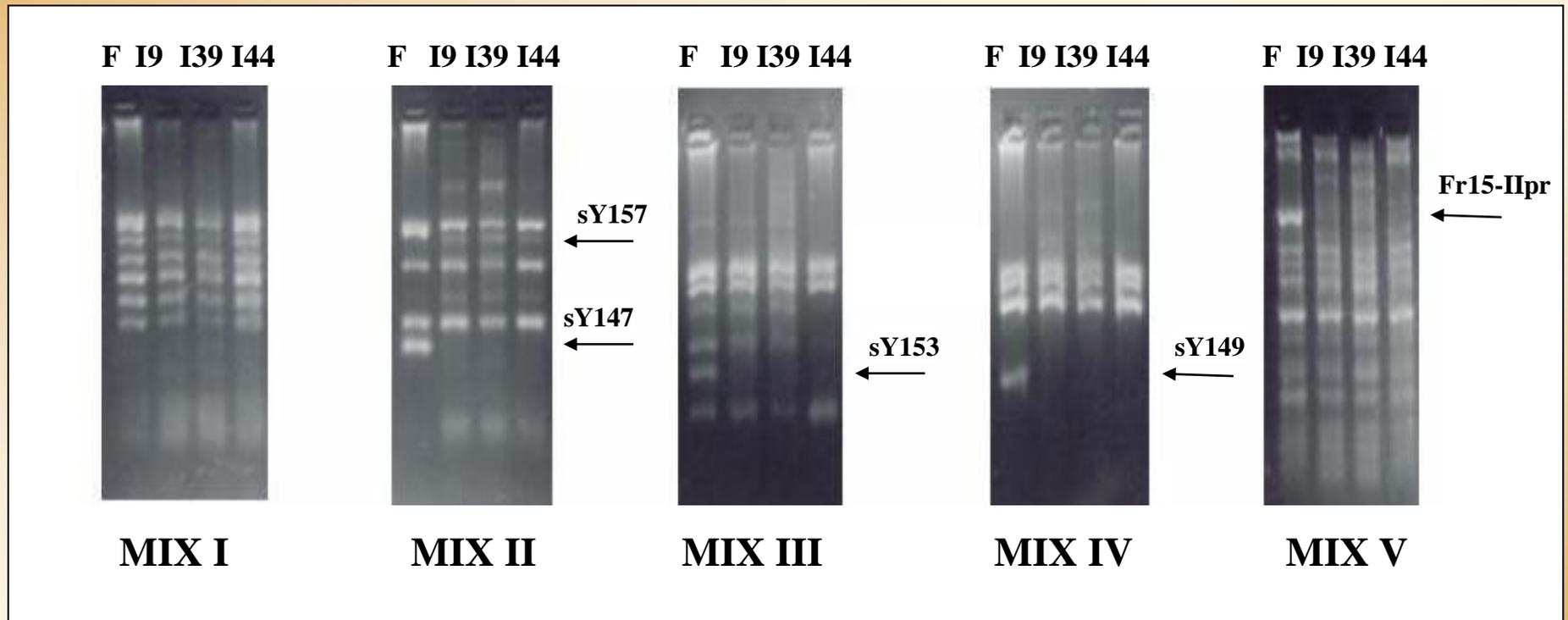
📄 Genes YRMM1 e DAZ

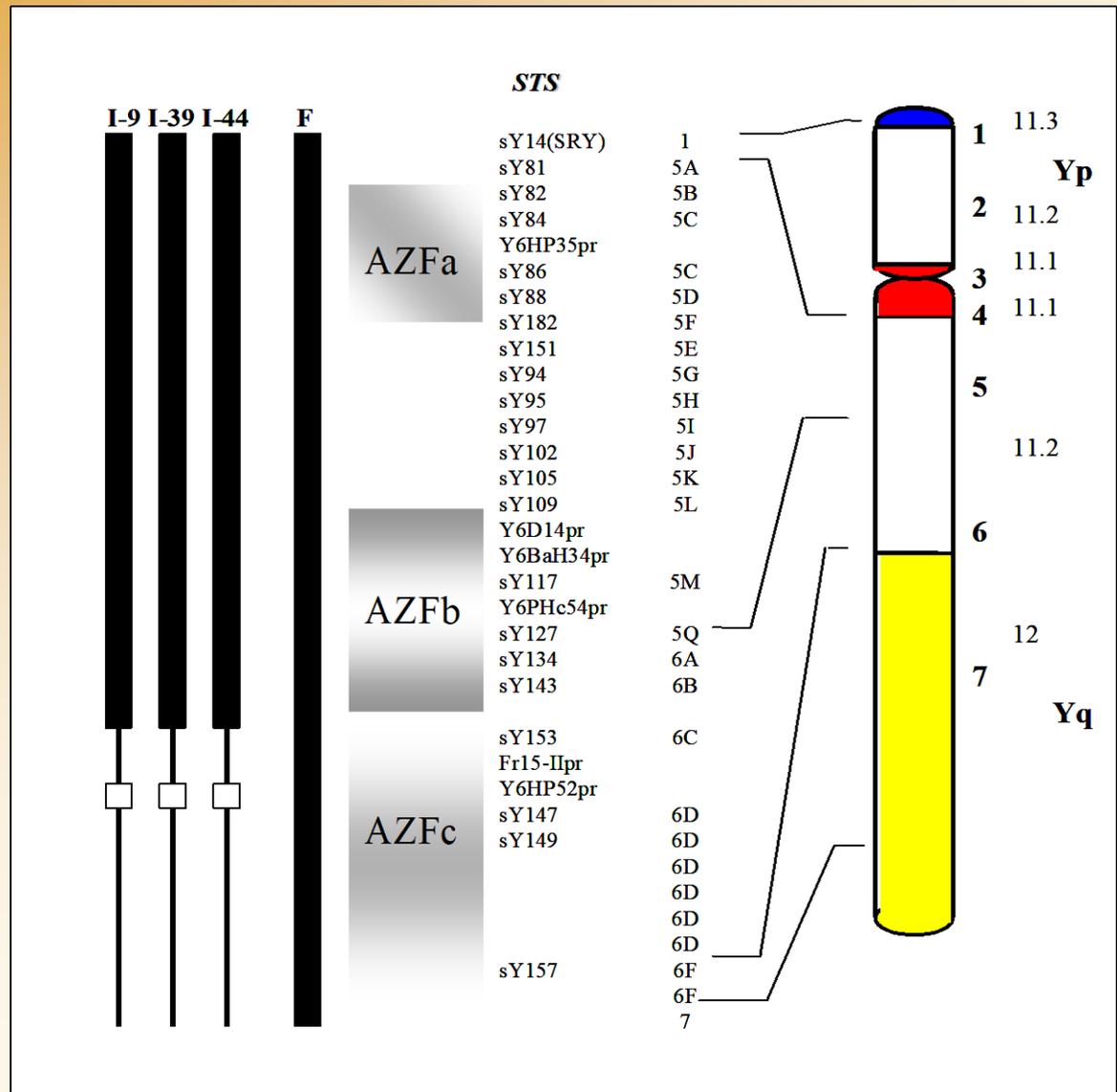
📄 PCR-SSCP (SSCP - *Single Strand Conformation Polymorfism*)



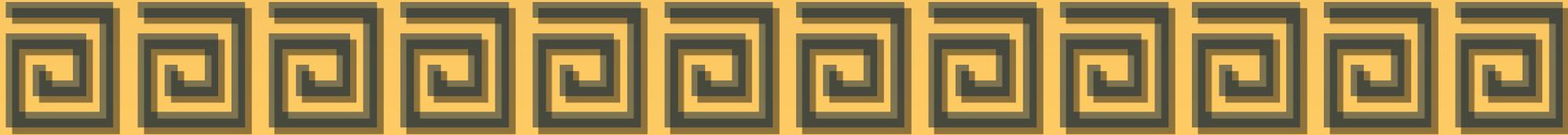
# RESULTADO DA ANÁLISE MOLECULAR

## ▲ ANÁLISE DAS MICRODELEÇÕES EM Yq11



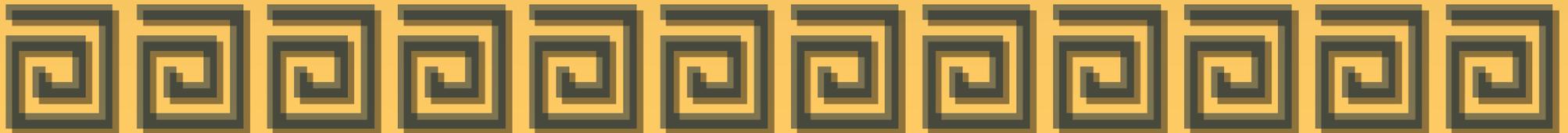


■ STSs presentes  
 | STSs ausentes

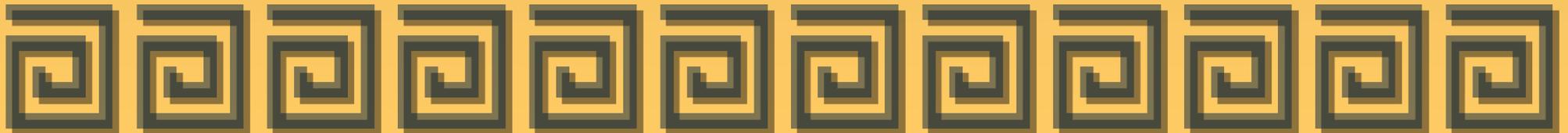
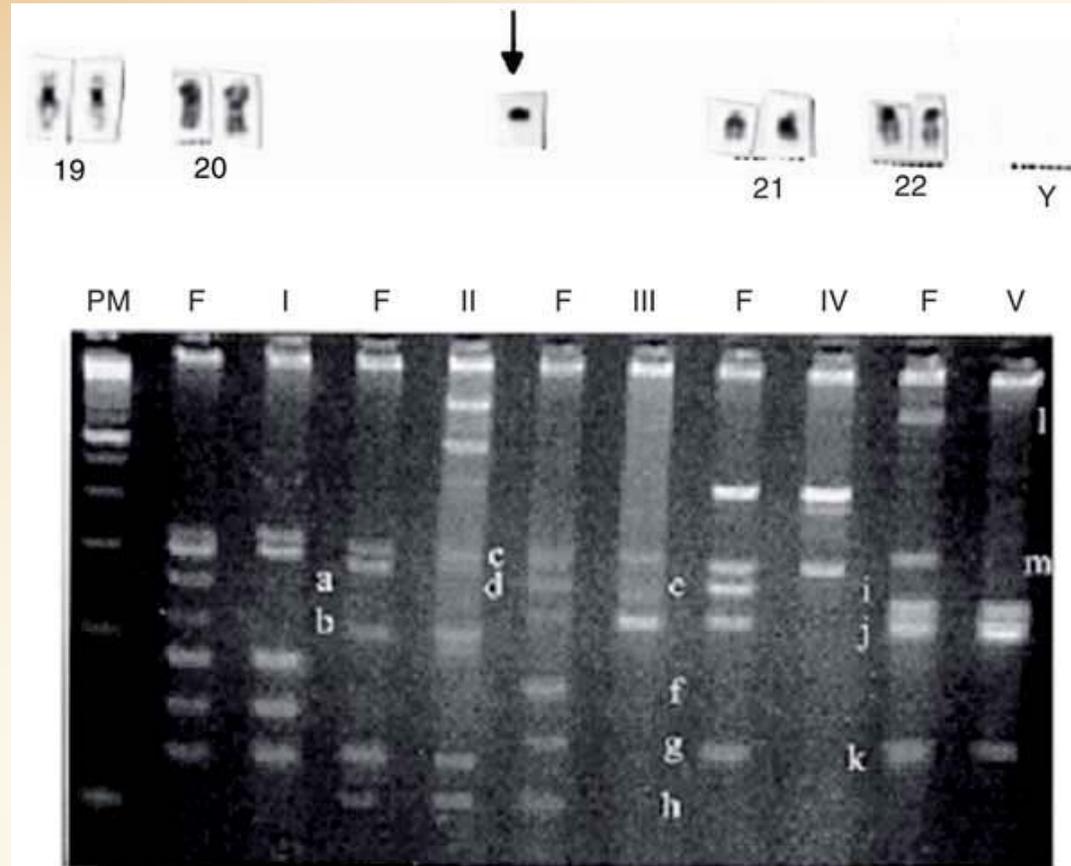


# Pina-Neto et al., 2006

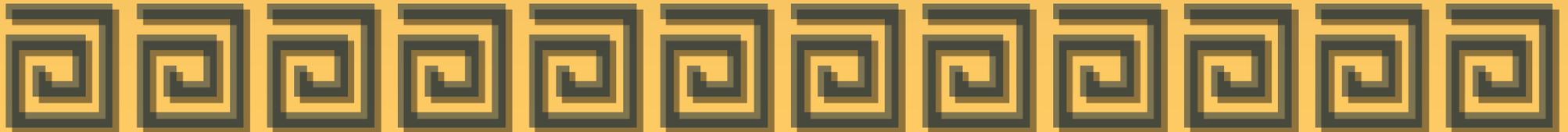
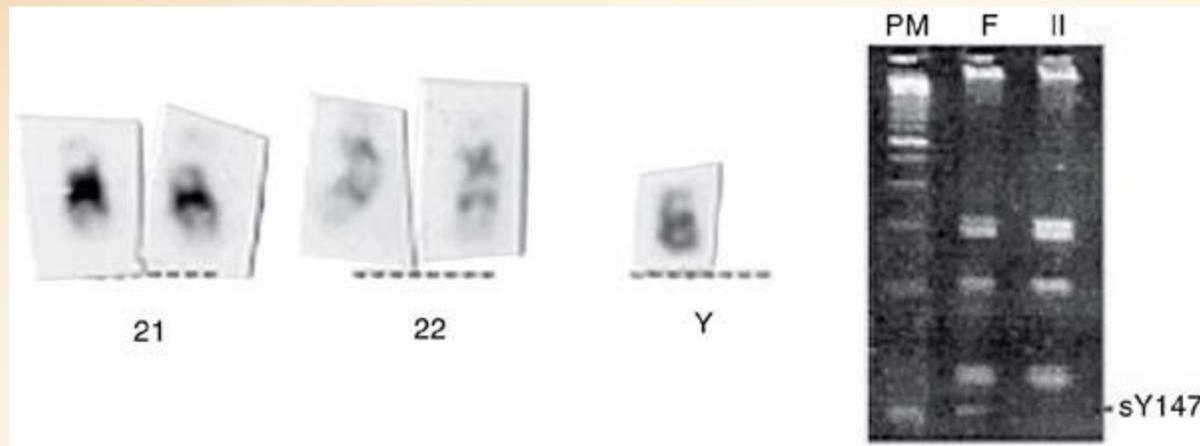
- ◆ Estudo da Microdeleções de AZF em 160 pacientes
- ◆ Foram detectadas  $12/160 = 7.5\%$ , sendo 7% nos oligo, 6.6% nos azoospérmicos e 20% nos asteno.
- ◆ Em 58.3% foram limitadas ao AZF c, 25% AZF b+c, 8.3% no AZF a e 8.3% em AZF a+b+c. Em 5 dos 12 foi feitos estudo de biópsia testicular.



# Cariótipo 45,X/46,X, del(Y) 13 STS



# Cariótipo 46, XY, del(Y) 1 STS

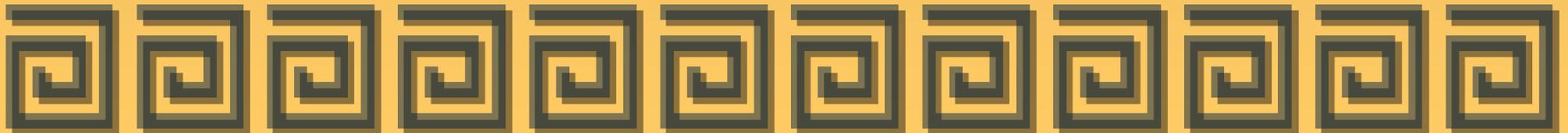




# Achados clínicos e laboratoriais relevantes dos pacientes com deleção do DAZ

CASO	ESPERMOGRAMA (N°/ml)	ANÁTOMO PATOLÓGICO	CARIÓTIPO
I-9	Azoospermia	Parada de maturação em espermatócito I	46,XY/47,XY +i(22p)(10%)
I-39	Oligozoospermia grave ( $0,2 \times 10^6$ )	SCO e parada de maturação em espermatócito I	46,XY
I-44	Azoospermia	SCO e hipoespermatogênese	46,XY

 **Microdeleções** *de novo*



# ANÁLISE DO GENE CFTR

4 casos azoospermia obstrutiva (CAVD)

## Resultados da análise das 24 mutações no gene CFTR

CASOS	ALELOS	MUTAÇÕES	VARIANTES DO <i>intron 8</i>
I-10	Alelo I	-	Variante 7T
	Alelo II	-	Variante 9T
I-42	Alelo I	<b>G542X</b>	Variante 7T
	Alelo II	-	Variante 9T
I-56	Alelo I	<b>ΔF508</b>	Variante 9T
	Alelo II	-	<b>Variante 5T</b>
I-61	Alelo I	-	Variante 9T
	Alelo II	-	Variante 9T

