Arch. Esp. Urol., 57, 9 (1.021-1.033), 2004

LA ACTITUD ANTE EL PACIENTE AZOOSPÉRMICO: LA VISIÓN DEL URÓLOGO.

José Angel Delgado Martín, Jesús Blázquez Izquierdo y Angel Silmi Moyano.

Servicio de Urología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España.

Resumen.- *OBJETIVO: Desde que en 1992 se consiguió la primera gestación tras ICSI el tratamiento y el el pronóstico del factor masculino severo y por tanto de la azoospermia ha cambiado de forma radical. El objetivo de este trabajo es aportar una revisión del tema desde la perspectiva actual del urólogo y del andrólogo.*

METODO: Se realiza un breve repaso de los dos tipos de azoospermias, de las técnicas diagnósticas y se expone el algoritmo utilizado en nuestro centro en el manejo del paciente azoospérmico. Se revisan las técnicas de recuperación espermática y del tratamiento quirúrgico de la azoospermia obstructiva ya que la implantación del urólogo es máxima en estos aspectos. Uno de los puntos analizados con mayor detalle por ser de los mas trascendentes y de máxima implicación en la actualidad, son las alteraciones genéticas en los pacientes azoospermicos.

RESULTADOS: En países desarrollados cerca de un 1% de las gestaciones se consiguen mediante técnicas de reproducción asistida y las alteraciones genéticas de los nacidos mediante ciclos ICSI se han incrementado a un 1,6% tres veces mas que en la población normal. Las alteraciones genéticas son diez veces superiores en los pacientes azoospérmicos con respecto a la población general. Se analiza la importancia de estos estudios en los pacientes con azoospermias secretoras. Se revisan las alteraciones genéticas mas frecuentes asociadas a la azoospermia y las técnicas diagnósticas empleadas. Su trascendencia radica en que estos diagnóticos permiten la realización de consejo genético y diagnóstico preimplantacional o prenatal con el fin de tratar de minimizar la transmisión de alteraciones y enfermedades genéticas a las sucesivas generaciones.

CONCLUSIÓN: El diagnóstico y tratamiento de la azoospermia sigue siendo uno de los retos mas apasionantes en el conocimiento de la infertilidad, existiendo líneas de investigación prometedoras como la espermatogénesis in vitro a partir de células precursoras y el autotrasplante de células criopreservadas en paciente sometidos a tratamiento de radio y quimioterapia.

Palabras clave: *Azoospermia. Infertilidad. Alteraciones genéticas. Técnicas de reproducion asistida. Tratamiento azoozpermia obstructiva. Urología. Varicocele.*

Summary.- *OBJECTIVES: Since first pregnancy after ICSI was achieved in 1992, the treatment and prognosis of severe male factor, i.e azoospermia, has radically changed. The objective of this article is to review the issue from the urologist-andrologist point of view.*

METHODS: We perform a short revision of the two types of azoospermia and diagnostic tests, and show the algorithm used in our centre for the management of patients with azoospermia.

We review the techniques for spermatozoid recovery and surgical treatment of obstructive azoospermia

Correspondencia

Dr. José Ángel Delgado Martín
C/ Cumare, 2 8-B
28033 Madrid. (España)
e-mail: jadelgado53@terra.es

because the role of the urologist is maximum in these aspects.
Genetic anomalies in azoospermic patients is one of the issues analyzed in more detail for being one of the most important and of maximum interest currently.
RESULTS: Nearly 1% of pregnancies in developed countries are achieved by assisted reproduction techniques, and genetic anomalies among newborns from ICSI cycles have increased to 1.6%, three times normal population. Genetic anomalies are tenfold in azoospermic patients in comparison to general population. We analyze the importance of these studies in patients with secretory azoospermia. We review the most frequent genetic anomalies associated with azoospermia and diagnostic tests employed. Its importance is based on this diagnosis allowing genetic counselling and pre-implant or prenatal diagnosis with the aim of trying to minimize genetic anomalies and disease transmission to next generations.
CONCLUSIONS: The diagnosis and treatment of azoospermia continues to be one of the most thrilling challenges in the field of infertility, with promising research lines such as in vitro spermatogenesis from stem cells and autotransplantation of criopreserved cells in patients undergoing radiotherapy and chemotherapy.

Keywords: *Azoospermia. Infertility. Genetic anomalies. Assisted reproduction techniques. Obstructive azoospermia. Treatment. Urology. Varicocele.*

INTRODUCCIÓN

No hace tantos años que los diagramas del algoritmo de la azoospermia en una importante proporción terminaban en un apartado que decía: IAD o adopción. En la actualidad desde la publicación en 1992 de la primera gestación tras ICSI (1) el tratamiento y el pronóstico del factor masculino severo y por tanto de la azoospermia ha cambiado de forma radical. Este gran avance ha contribuido de forma esencial a conseguir el fin primordial del tratamiento de la infertilidad, que no es otro que el de lograr que la pareja consiga un hijo en su hogar. La magnitud de este avance ha abierto nuevas posibilidades, ha cambiado diseños establecidos y ha creado nuevos problemas.

Sucedió lo mismo en otros procesos patológicos, cuando los tratamientos evolucionaron más rápidamente que los diagnósticos etiológicos. En muchas clínicas de fertilidad y centros de andrología se desatiende el diagnóstico etiológico, por no ser en ocasiones posible y casi nunca rentable desde el punto de vista económico, debido a las escasas terapias etiológicas que hoy en día disponemos y la alta eficacia de los nuevos tratamientos de la infertilidad en pacientes azoospérmicos.

CLASIFICACIÓN Y DIAGNÓSTICO

El término azoospermia define la ausencia de espermatozoides en el semen. Siguiendo los criterios de la OMS (2) el diagnóstico debe de realizarse con el centrifugado del semen a 3000 g durante 15 minutos seguido de un examen meticuloso con un objetivo de inmersión de 400X. Este diagnóstico debe confirmarse en una nueva muestra obtenida con un intervalo mínimo de cuatro semanas, ya que en algunas ocasiones en un nuevo estudio se encuentran espermatozoides, bien por una mala recogida de la primera muestra o en oligozoospermias muy severas que pueden alternar muestras azoospérmicas con oligozoospérmicas. El hecho de encontrar espermatozoides aunque sea en número muy escaso tiene claras implicaciones diagnósticas y terapéuticas.

La azoospermia se clasifica en obstructiva y secretora. En las primeras la causa es la obstrucción de la vía seminal, en cualquier punto, desde la rete testis y los conos eferentes hasta los conductos eyaculares o uretra, aunque los puntos más frecuentes son los deferentes y el epidídimo. En las segundas, las secretoras, existe una falta de producción espermática por defectos intrínsecos de la espermatogénesis, o sistémicos, como ciertas alteraciones hormonales yatrógenas o genéticas. También pueden coincidir en una misma persona factores combinados, dando lugar a azoospermias mixtas, en las que existe una lesión productiva en un testículo y obstructiva en el contralateral. Hay que tener en cuenta que una alteración secretora no descarta la presencia de una obstrucción en la misma gónada.

Ante una azoospermia secretora la realización de un estudio genético en la era del tratamiento ICSI se vuelve muy necesario. No hay que olvidar que en cerca de un 20% de estos pacientes se encuentran alteraciones genéticas (3), cifra muy superior a la hallada en la población general. Además parece muy

razonable, antes de iniciar un ciclo ICSI, la realización rutinaria del estudio molecular del cromosoma Y, ya que son frecuentes las microdelecciones en su brazo largo, consiguiendo de esta forma el diagnóstico etiológico de la azoospermia. También son obligados los estudios de las mutaciones del gen de la fibrosis quística en la pareja, en los casos de agenesia bilateral congénita de deferentes (ABCD) (4). Son frecuentes algunas alteraciones limitadas a la meiosis, así como alteraciones sinápticas, que solo podrán ser detectadas si se realiza el estudio meiótico en biopsia testicular. Estas alteraciones son muy frecuentes en las oligoastenozoospermias muy severas y en las azoospermias, aproximadamente unas 2,5 veces más frecuentes que en la población infértil general (5). Si estas pruebas detectan un defecto importante que no puede ser resuelto mediante diagnóstico preimplantatorio tras gestación con ICSI las únicas elecciones posibles son IAD o adopción.

El diagnóstico diferencial entre los dos tipos de azoospermias, obstructiva y secretora, precisa de una detallada historia clínica, ya que entre los antecedentes suelen encontrarse con frecuencia los datos que nos orientan hacia su etiología. El 96% de los pacientes con azoospermia obstructiva tienen unos niveles de FSH iguales o inferiores a la normalidad y un diámetro longitudinal testicular igual o superior a los 4,6cm mientras que un 89% de las azoospermias secretoras tienen una FSH superior a 7,6 UI/ml o un eje longitudinal inferior a 4.6 cm (6).

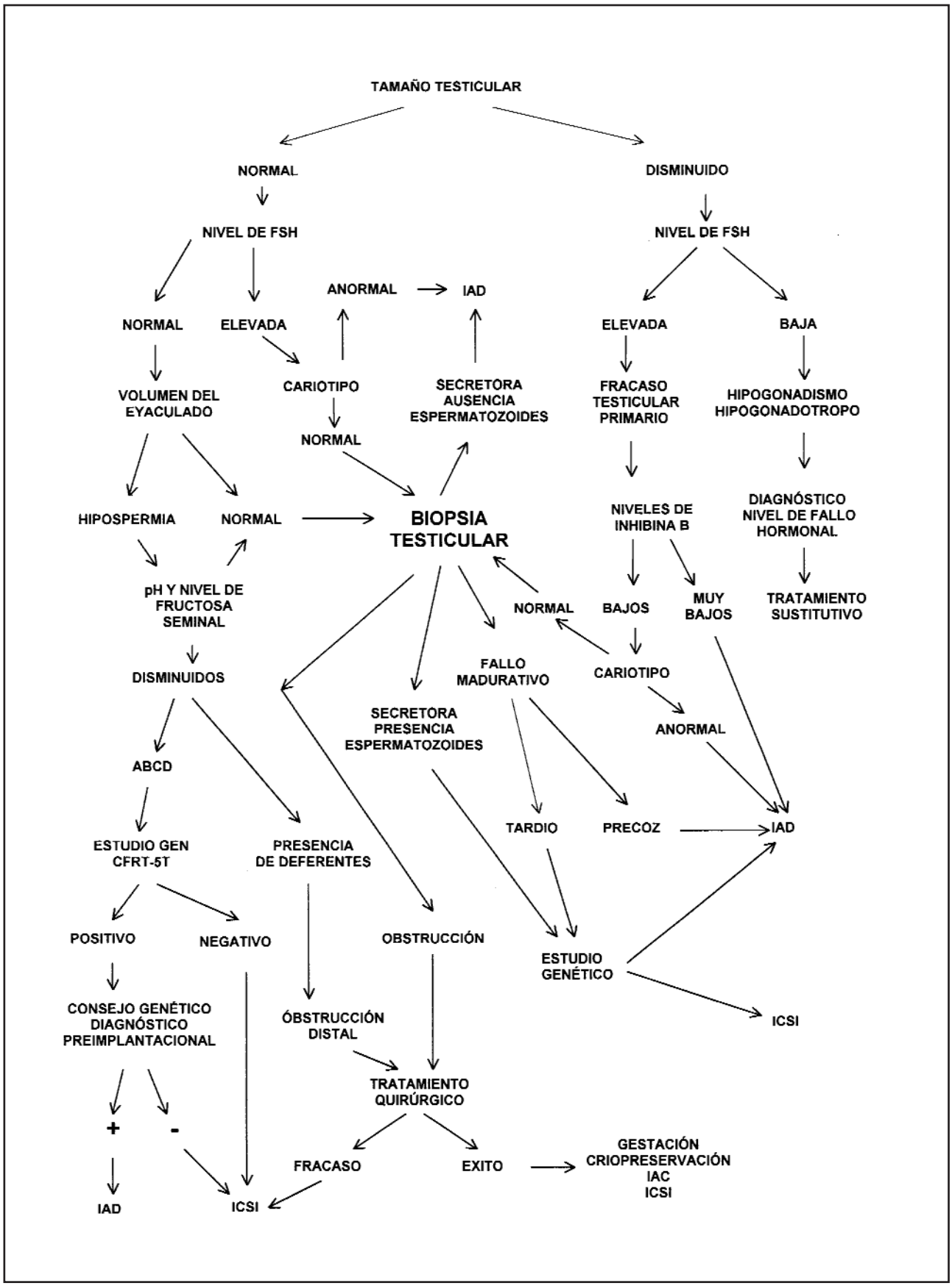
Con la combinación de estos dos parámetros, tamaño testicular y niveles de FSH se pueden abrir cuatro brazos para el diagrama diagnóstico terapéutico de la azoospermia, que resultan muy útiles por su simplicidad y por su alta adaptación a la realidad clínica.

Ante un paciente con testículos de volumen disminuido con una FSH elevada podemos asentar el diagnóstico de fallo testicular primario. (Figura1). Los niveles de Inhibina B informarán de la actividad espermatogénica intratubular. Si se encuentra muy disminuida puede incluso desaconsejar la biopsia testicular con fines reproductivos, quedando solo como diagnóstica, pero si los niveles son normales o ligeramente disminuidos se debe realizar biopsia testicular con fines terapéuticos con la intención de criopreservación de espermatozoides. Si en la biopsia se encontrasen formas inmaduras con carga cromosómica haploide se puede intentar realizar una ICSI (7). De todas formas hay que tener en cuenta que las tasas de recuperación espermáticas positivas mediante biopsia testicular en azoospermias secretoras se encuentran entre un 20 y un 40% según las series (8). Sin embargo estos pacientes, como ya se comentó anteriormente, presentan el problema añadido de una tasa alta de alteraciones cromosómicas en sus espermatozoides, sobre todo en microdelecciones del brazo largo del cromosoma Y en la región AZF (hasta un 16%) (9). También se encuentra una mayor frecuencia de aneuploidías en los cromosomas 4, desde el 6 al 13 ambos inclusive, 17,18, 21 y los cromosomas sexuales valorado mediante técnica de hibridación fluorescente in situ (FISH) (10), con las serias implicaciones de transmisión de estas anomalías cromosómicas sobre todo las que afectan a los cromosomas sexuales.

Los pacientes azoospérmicos con testes pequeños y niveles bajos de gonadotropinas son aquellos que padecen de hipogonadismo hipogonadotropo. Son varios los cuadros que se presentan de esta forma, aunque el objetivo del tema no es su relación exhaustiva. Existe un hipogonadismo hipogonadotropo congénito, o síndrome de Kallman que se asocia a anosmia, se acompaña de retraso puberal, aunque hay casos menos graves que pueden presentar solo esterilidad. El defecto hormonal primario es la falta de secreción de GnRH por el hipotálamo (11). El hipogonadismo hipogonadotropo secundario puede ser debido a cirugías, tumores o traumatismos hipofisarios, a déficit aislados de gonadotropinas o a panhipopituitarismo, por ello siempre se debe de practicar un estudio de silla turca, así como pruebas de estimulación hormonal con GnRH para localizar el nivel hipotalámico o hipofisario de la lesión. Siempre se debe descartar una hiperprolactinemia antes de iniciar un tratamiento sustitutivo. Cuando la hipófisis es normal se puede tratar con GnRH, cuando el hipogonadismo es hipofisario se debe emplear tratamiento combinado de hCG/FSH, o también con FSH recombinante asociado a parches o geles de liberación de andrógenos. El pronóstico de fertilidad en un hipogonadismo hipogonadotropo es bueno y frecuentemente se logra recuperar la espermatogénesis.

Cuando el volumen testicular está conservado y la FSH elevada suele tratarse de pacientes con bloqueos madurativos precoces, de mal pronóstico, que

TABLA I. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN EN AZOOSPERMIA: HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS.



frecuentemente precisarán IAD. (Figura2). En los estudios histológicos de la biopsia testicular con la que se confirma el diagnóstico de este tipo de azoospermia se encuentra ausencia de formas maduras junto a estadios previos normales de la espermatogénesis.

En los casos de pacientes con volumen testicular conservado y FSH normal el pronóstico es mejor porque con más frecuencia suelen ser azoospermias obstructivas, que son confirmadas mediante biopsia testicular. Simultáneamente con la biopsia diagnóstica se realizará la criopreservación de espermatozoides, así como la valoración macroscópica del epidídimo en el que se visualizan los túbulos dilatados.

En algunos casos el volumen del eyaculado, junto con el pH y los niveles de fructosa seminal, pueden localizar el nivel de la obstrucción, ya que en las azoospermias secundarias a obstrucción de los eyaculadores o por agenesia congénita bilateral de deferentes, no se emite en el eyaculado, el componente de las vesículas seminales, por lo que el semen será hipospérmico, con un pH ácido y unos niveles de fructosa bajos. Estos dos tipos de obstrucción pueden distinguirse entre sí por la palpación de los deferentes y la ecografía transrectal, y en algunos casos puede ser necesaria una deferentovesiculografía o una uretrocistoscopia.

Las demás obstrucciones presentarán un volumen seminal normal, con parámetros bioquímicos sin alteraciones y sus localizaciones más frecuentes son el epidídimo y el deferente secundarías a vasectomía y epididimitis. No se pueden descartar las obstrucciones múltiples de la vía seminal, y en algunos casos será preciso la realización de una deferentovesiculografía para localizar el nivel de la obstrucción, como ocurre en algunos procesos inflamatorios o secundarios a cirugías como herniorrafias, u orquidopexias. En Tabla I se expone el protocolo diagnóstico-terapéutico que seguimos en la actualidad en nuestra unidad de andrología.

ALTERACIONES GENÉTICAS EN LOS PACIENTES AZOOSPÉRMICOS

Con el advenimiento de las nuevas técnicas de micropunción (ICSI) se pueden conseguir gestaciones por factor masculino severo que no hace muchos años eran inviables. Se logra saltándose ciertos pasos mediante los que la selección natural impide que determinadas alteraciones, se puedan difundir y perpetuarse en la especie. Esto debe de ser tenido en cuenta ya que en países desarrollados más de un 1% de las gestaciones se consiguen mediante técnicas de reproducción asistida (TRA). Últimamente se ha detectado un incremento de las alteraciones cromosómicas en los nacidos tras técnicas ICSI, un 1,6% esto supone casi tres veces lo que se encuentra en la población normal (12) parece que este aumento no está relacionado con la técnica en sí, sino con la selección de los pacientes a los que se le indica. De ello se deduce la importancia que hoy en día tiene el estudio genético

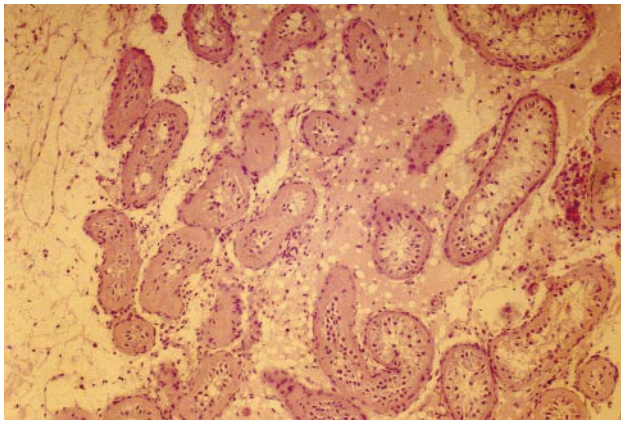


FIGURA 1. Atrofia testicular en biopsia, secundaria a cripotorquidia

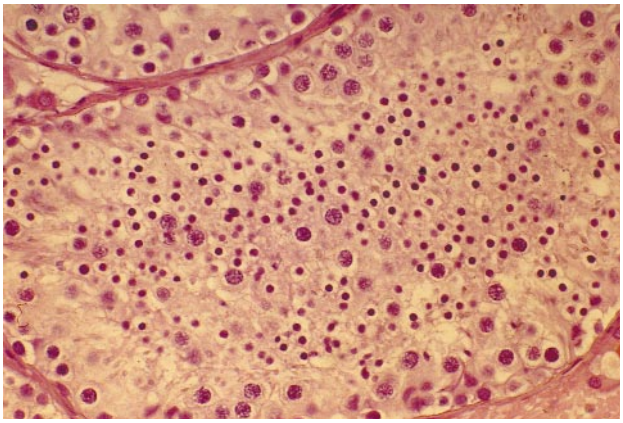


FIGURA 2. Bloqueo espermático.

de aquellos varones con azoospermias secretoras y criptozoospermias. Conocemos que el número de alteraciones genéticas está muy aumentado en azoospérmicos con respecto a la población general. La presencia de anomalías cromosómicas en varones infértiles es diez veces superior a la población general (13). En muchas de estas alteraciones se encuentra la etiología de su infertilidad.

Existen varios tipos de alteraciones genéticas. El más sencillo es la mutación puntual de un solo gen. Son alteraciones que siguen las reglas de la herencia mendeliana. El mejor ejemplo de este proceso es la fibrosis quística. La agenesia bilateral congénita de deferentes (ABCD) se asocia con elevada frecuencia a la mutación del gen de la fibrosis quística, causante de la enfermedad fibroquística pancreática o mucoviscidosis. Su incidencia es de uno de cada 2500 nacidos vivos, afecta al 1-2% de los varones infértiles (14) El gen de la fibrosis quística conocido como CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulador) está localizado en el brazo largo del cromosoma 7 (7q 31.2) y posee un total de 27 exones, encontrándose alterado en el 70-80% de estos pacientes, cuando en la población general solo se encuentra en cifras inferiores al 4%. Se conocen hasta la actualidad una cifra cercana a las 1000 mutaciones de este gen, pero afortunadamente en nuestro medio el 90% de las fibrosis quísticas tienen su origen en solo 75 mutaciones (15). Este gen se expresa en diversos tejidos como el bronquial, pancreático, hepático, conductos de Wolf, glándulas sudoríparas, etc. La mutación más frecuentemente encontrada es la DF508 que se observa en el 40% de los pacientes con ABCD. También existe la posibilidad de que la ABCD no esté relacionada con mutaciones del gen CFTR, en cuyo caso suele asociarse a otras alteraciones congénitas del tracto urinario, supone aproximadamente un 20% de las ABCD.

Se trasmite de forma autosómica recesiva, por lo que deben estar afectados los dos alelos para que se manifieste la enfermedad siendo portadores los pacientes que solo presentan un cromosoma con gen CRTF alterado. Existen otras alteraciones que no afectan a exones (partes del DNA que darán lugar a proteínas) sino al intrón 8 del gen CFTR, que puede presentar tres variaciones conocidas como 5T, 7T, y 9T. Estas variaciones aisladas no producen enfermedad, pero ésta aparece cuando están en un alelo y en el otro existe una mutación del gen. Es por esto que tiene tanta importancia conocer la existencia de la situación en la pareja del varón con ABCD, con respecto a sus posibles alteraciones del gen CFTR y variante 5T (16), por ello ambos deben de ser estudiados antes de proceder a un tratamiento ICSI, para poder dar el consejo genético y programar en su caso el diagnóstico preimplantacional, transfiriendo al útero solo los embriones sanos o los portadores, ya que sin estas precauciones podría engendrarse un hijo con fibrosis quística (17).

Otra causa genética de azoospermia son las alteraciones cromosómicas, estas son cambios de segmentos completos de los cromosomas. De estas se conocen dos tipos, las alteraciones numéricas y las estructurales. Las alteraciones numéricas se producen por falta de emparejamiento de los cromosomas o por alteraciones de la disyunción de los mismos impidiendo la correcta separación de las cromátides hijas durante la división celular. Cuando la consecuencia es la pérdida o ganancia de un solo cromosoma se llama aneuploidía, cuando es de toda una serie se conoce como poliploidía.

Las alteraciones estructurales son producto de rupturas y reagrupamientos cromosómicos, esto puede dar lugar a aumentos del material genético (duplicaciones), pérdidas (delecciones) o a intercambios (defectos equilibrados).

Las aneuploidías autosómicas no presentan infertilidad aislada, suelen ir asociadas a un cuadro fenotípico concreto, como ocurre en las trisomías del 13, 18 o 21. Por el contrario las aneuploidías en cromosomas sexuales son muy frecuentes en varones infértiles. La de mayor incidencia de presentación es el síndrome de Klinefelter, afecta a 1/500 nacidos vivos. En un 90% de los casos presentan un cariotipo 47XXY y el resto son mosaicismos. El paciente con Klinefelter 47XXY debe de ser siempre azoospérmico, ya que las células 47XXY son incompetentes para entrar en meiosis (18), por lo que cualquier paciente con Klinefelter no azoospérmico debe de ser mosaico 47XXY/46XY al menos en la línea germinal.

La disgenesia gonadal mixta es una aneuploidía sexual mosaico 45X/46XY o 46XY, presentando frecuentemente una cintilla en un lado y una gónada

masculina sin células gernimales pero con Sertoly y Leydig normales en el contralateral (19). La gónada disgenética puede sufrir transformación maligna en un 25%. Existen otras aneuploidías de los cromosomas sexuales como el varón XXY que puede ser azoospérmicos por detención de maduración o por presentar solo células de Sertoly.

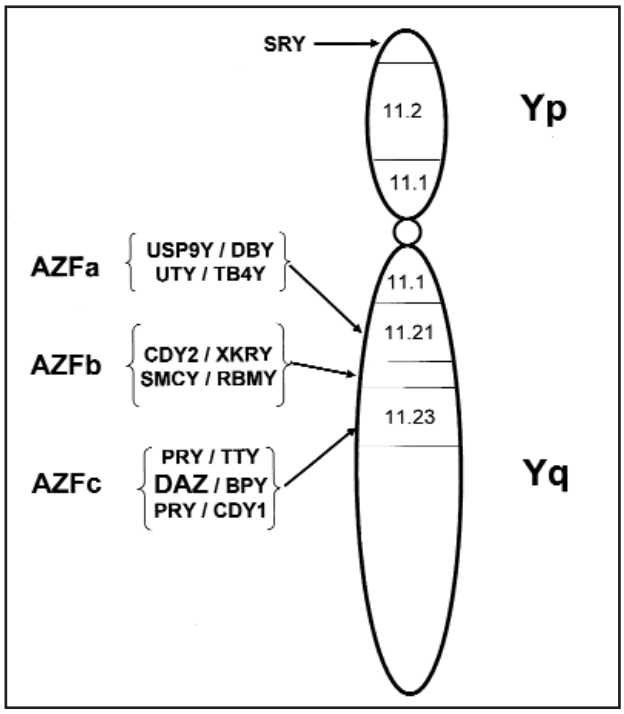
Las translocaciones son 8,5 veces más frecuentes en varones infértiles que en la población general (20). La gran mayoría de portadores de estas alteraciones tienen parámetros seminales anormales pudiendo llegar hasta la azoospermia (21). Este tipo de alteración cromosómica tiene tendencia a equilibrarse, de modo que no se pierde ni se gana material genético, sus portadores son varones fenotípicamente normales, pero que frecuentemente presentan oligospermia o azoospermia.

El síndrome del varón XX se puede explicar mediante una translocación de un fragmento del cromosoma Y de la región SRY en Yp a un locus homólogo del cromosoma X, o por el contrario una delección de la región del X necesaria para inhibir el gen autosómico determinante del testículo (22).

Hoy en día conocemos que el cromosoma Y tiene genes esenciales para el desarrollo de la gónada masculina, un gen determinante del sexo (SRY) que induce durante el desarrollo del feto la transformación de la gónada indiferenciada en testículo, dicho gen se encuentra situado en el brazo corto de este cromosoma acrocéntrico (Yp11.3). Las alteraciones de este gen relacionadas con infertilidad son infrecuentes.

Tiepolo y Zuffardi (23-24) encontraron en el brazo largo del cromosoma Y lo que llamaron factor de azoospermia (AZF). Vogt describió las microdelecciones asociadas (25) que se producen en tres regiones diferenciadas de Yq11 y son denominadas AZFa, b, c, pacientes afectos de microdelecciones de uno de estos segmentos de cromosoma padecen de oligozoospermias severas inferiores a 5 millones/ml o azoospermia , y en los casos en que las delecciones afectan a los tres segmentos siempre presentan azoospermia. Uno de los más importantes genes deleccionados perteneciente a esta región (AZFc) es el denominado gen DAZ (deleted in azoospermia). Tabla II.

TABLA II. MAPA CON LA LOCALIZACIÓN DEL GEN SRY, Y DE LAS TRES REGIONES DEL FACTOR DE AZOOSPERMIA AZFa,b,c CON LOS GENES CONOCIDOS.



Las delecciones de AZFa parecen estar relacionadas con el síndrome de Sertoly only, las de AZFb con bloqueos de la espermatogénesis y las de AZFc con bloqueos altos postmeióticos. La incidencia de microdelecciones del cromosoma Y en pacientes azoospérmicos es elevada 15-18% mientras que en oligozoospérmicos es mucho más baja, entre un 2 y un 5% (26-27-28). Pueden existir mosaicos en los que la microdelección se encuentre limitada a la línea germinal y no a las células somáticas, esto es un factor a tener en cuenta cuando el estudio se realiza en células sanguíneas. (29)

Los pacientes con microdelecciones del cromosoma Y pueden ser tratados mediante TRA-ICSI, y salvo en aquellos casos de mosaicismo los padres deben de conocer que si su hijo es varón será fenotípicamente normal, pero portará la alteración cromosómica.

El estudio de las microdelecciones del cromosoma Y se encuentra indicado hoy en día en aquellos varones con oligozoospermias severas y sobre todo en aquellos con azoospermias secretoras, porque permite

conocer la etiología de la azoospermia, permite evitar la biopsia con fines reproductivos en algunos casos, ya que si se encuentran microdelecciones en las tres regiones a, b y c, no aparecerán espermatozoides en la biopsia, salvo en el caso de que sea un mosaicismo.

TECNICAS DE RECUPERACIÓN ESPERMÁTICA EN VARONES AZOOSPÉRMICOS

El cambio radical del pronóstico de la azoospermia se debe fundamentalmente a la aparición de la técnica de microinyección espermática. Como ya se comentó anteriormente los varones con azoospermias secretoras, incluso con testículos pequeños y FSH elevada, pueden recuperar espermatozoides en biopsia testicular entre un 20 y un 40% según las series (8). Para conseguir los espermatozoides necesarios, el andrólogo dispone de una batería de técnicas que usará según su experiencia, disponibilidad e indicaciones concretas según los casos.

La biopsia testicular antes de la aparición del ICSI cumplía una función primordial como exploración diagnóstica, a la que hoy se le añade la terapeútica, pudiendo en ocasiones unir las dos indicaciones, o a veces perseguir únicamente una de las dos finalidades. Cuando solo se disponía de técnica FIV para utilizar espermatozoides testiculares, los resultados eran desalentadores, pero el pronóstico cambió de forma radical cuando se comenzaron a utilizar estos espermatozoides para la micropunción del ovocito, llegando incluso a comparar los resultados del factor masculino severo con ICSI, al de la FIV por factor tubárico.

Los espermatozoides se obtienen fundamentalmente de dos zonas, el epidídimo y el testículo, y tres tipos de técnicas, las abiertas que pueden ser microquirúrgicas o no y las percutáneas.

La microaspiración de espermatozoides epididimarios (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration) (MESA). Se realiza con bloqueo anestésico del cordón espermático, mediante una pequeña incisión se expone el epidídimo, que no precisa ser exteriorizado, con un microscopio quirúrgico utilizando entre 10 y 40 aumentos se diseca un microtúbulo epididimario de la porción más proximal del epidídimo obstruido. Con una micropipeta se aspira el contenido y se transporta a un medio de cultivo adecuado examinándose al microscopio. Si no se encuentran espermatozoides se realizan microdisecciones sucesivas de porciones más proximales. Los espermatozoides sobrantes pueden ser crioperservados para sucesivos procedimientos ICSI ya que los resultados con espermatozoides frescos y espermatozoides congelados obtenidos por MESA son muy similares.

También se pueden obtener espermatozoides epididimarios por aspiración percutánea (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration) (PESA), como técnica mínimamente invasiva. Previa anestesia del cordón espermático (MESA) se punciona el epidídimo con una mariposa del número 21 conectada a una jeringa y mediante presión negativa se extraen los espermatozoides. Entre sus ventajas sobre la técnica abierta se encuentran la posibilidad de ser repetida si se precisa dada su baja invasividad, y además no se precisa de experiencia y habilidad microquirúrgica. En contra la calidad de los espermatozoides obtenidos mediante MESA es mayor que mediante PESA sobre todo si se trata de muestras criopreservadas (30).

La extracción puede realizarse mediante exploración abierta (Testicular Sperm Extraction) (TESE), cuya técnica sigue las mismas pautas que la de las biopsias diagnósticas, realizándose varias tomas en sitios distintos, y si es preciso en ambos testículos, cuando no se encuentran espermatozoides, como ocurre con frecuencia en las azoospermias secretoras, que presentan lesiones en parche, con bajo nivel de espermatogonias por túbulo.

Los espermatozoides testiculares también pueden ser extraídos mediante técnica percutánea (Testicular Sperm Aspiration) (TESA), se realiza habitualmente mediante una aguja de mariposa del calibre 21 con aspiración simultánea y también con anestesia local. También está descrita la aspiración con aguja fina (TEFNA) tipo Menguini 20G y la biopsia con aguja Tru-cut, que es más invasiva pero permite el análisis anatomopatológico del tejido mediante punción.

Existe una técnica microquirúrgica de extracción de los espermatozoides testiculares por microdisección. Es una técnica que aumenta la recuperación de espermatozoides y que disminuye la cantidad de tejido a resecar. Se realiza con magnificación entre 10-15 aumentos. Con microbisturí se realiza una inci-

sión transversal en la parte media testicular y bajo el aumento del microscopio quirúrgico se extraen los tubos seminíferos que se encuentren llenos, los cuales se diferencian de los vacíos, finos y delgados como hilos (31).

En general con las técnicas percutáneas el rendimiento siempre es inferior al de la técnica abierta, siendo esta diferencia fundamental en el caso de las azoospermias secretoras.

La biopsia abierta es preferible siempre en los casos de azoospermias de origen desconocido, o en aquellos en que es la primera biopsia, y esta sea precisa para confirmar el diagnóstico. También es fundamental el tipo de azoospermia, porque como vimos la eficacia de las técnicas percutáneas en azoospermias secretoras es muy inferior a la de las técnicas abiertas, mientras que estas diferencias no son tan apreciables en azoospermias obstructivas (32-33). También es importante considerar si se va a precisar de la criopreservación, porque las técnicas abiertas consiguen mayor recuento de espermatozoides que las percutáneas y este punto es importante en la eficacia de la criopreservación. En algunas ocasiones también las alteraciones anatómicas pueden influir en la indicación, como en las ausencias congénitas de deferentes, en las epididimitis en las que un epidídimo engrosado y fibroso dificulte la punción, y por descontado en las secretoras en las que los epidídimos pueden estar aplanados y vacíos.

En aquellos casos en los que no se obtengan espermatozoides testiculares, en azoospermias secretoras, se puede intentar con espermátides alargadas (34). Los intentos con espermátides redondas han sido desalentadores. (35).

Existen líneas de investigación que tratan de lograr la espermatogénesis in vitro a partir de células precursoras, sobre todo en pacientes con bloqueos en espermátide redonda y lanceolada, mediante la maduración in vitro de tejido testicular cultivado en presencia de concentraciones elevadas de FSH y testosterona (36). Hoy en día solamente los espermatocitos bloqueados a partir de la fase de paquitene pueden reclutarse para meiosis in vitro acelerada, por lo que este tratamiento no puede utilizarse en pacientes con síndrome de sertoly only. También el autotrasplante de células germinales criopreservadas en pacientes sometidos a radio y quimioterapia por cáncer, son líneas prometedoras.

TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LAS AZOOSPERMIAS OBSTRUCTIVAS

El éxito de las TRA mediante ICSI ha conseguido que en muchas clínicas no se planteen tratamientos urológicos etiológicos en las azoospermias obstructivas. Es responsabilidad de urólogos y andrólogos sentar correctamente estas indicaciones, ya que incluso en algunas ocasiones no llegan a ser ni siquiera valoradas por el especialista en urología. Además también se debería borrar la imagen de malos resultados que se obtenían en los tratamientos quirúrgicos de estas azoospermias, antes de que se difundieran las técnicas microquirúrgicas. Si una reconstrucción de la permeabilidad de la vía seminal funciona, estaremos realizando un tratamiento etiológico, que permite la actuación de la selección natural, que es más económica que las técnicas de TRA, que tiene una probabilidad muy inferior de gestación gemelar (32% frente al 1,05% de la población general) (37) y que permite tener más de una descendencia si se desea sin tratamientos sucesivos.

Las obstrucciones de los conductos eyaculadores suelen corresponder a alteraciones congénitas en la formación del sistema ductal seminal, aunque también puede producirse por el efecto de prostatitis, o por quistes del utrículo o de las vesículas seminales. El cuadro clínico es el mismo que el de una ABCD, pero en la que se pueden palpar los deferentes, y debe de ser confirmada por pruebas como el tacto rectal, la ecografía transrectal (38) o la uretroscopia. La solución quirúrgica de esta patología es la resección transuretral de los conductos eyaculadores (RTUCE) o del techo del quiste utricular en su caso (39-40). Esta resección puede verse ayudada si con control ecográfico se punciona la vesícula seminal con azul de metileno, lo que nos permitirá ver fluir el colorante cuando la resección sea correcta. Si cuando se puncionan las vesículas o el quiste utricular no se obtienen espermatozoides, esto indica que la obstrucción puede tener otra ubicación, lo que obliga a la realización de una deferentovesiculografía previa para su localización, sin olvidar que existen las obstrucciones múltiples. La técnica se realiza con un resector de 24 F resecando el veru montanum o el quiste utricular, hasta ver fluir el

colorante instilado por punción en vesículas seminales, en el quiste utricular o en el deferente según los casos. Después de RTUCE se consigue la repermeabilización en más de la mitad de los pacientes, y el embarazo en el 50% de las parejas que se repermeabilizaron (41). En los casos en que hay repermeabilización pero no gestación se aconseja TRA, realizando IAC, FIV o ICSI, en función de las cifras de recuperación espermática. Se debe proteger al paciente con antibióticos para evitar que el posible reflujo de la orina a la vía seminal pueda infectarla y comprometer los resultados al causar epididimitis o prostatitis crónica.

La causa más frecuente de obstrucción de los conductos deferentes es la vasectomía. Cerca de un 3% de los varones vasectomizados en Inglaterra solicitan en algún momento deseos de volver a tener hijos (42). En España es difícil poder tener cifras fiables del número de pacientes que desean reconvertir su vasectomía dado que un gran número de ellas no se realizan en el sistema público, aunque es notorio en la experiencia clínica diaria que el aumento de esta demanda es progresivo, siendo la causa más frecuente el cambio de pareja.

La técnica se realiza con microscopio quirúrgico aunque es suficiente la utilización de unas gafas de aumento. Los fundamentos quirúrgicos básicos de esta cirugía se basan en el correcto afrontamiento de sus tres capas, fundamentalmente de la mucosa, sin solución de continuidad, con la menor tensión posible y con una correcta estanqueidad (43). Se preparan ambos cabos del deferente seccionado y se reseca el granuloma en el caso de que este exista. Se comprueba la permeabilidad del cabo uretral con la inyección en su luz de suero fisiológico hasta que fluya por uretra y se toma una muestra del líquido que aparece del cabo epididimario para su análisis intraoperatorio, para demostrar la presencia de espermatozoides. Si éstos no aparecen será preciso aproximarse con sucesivos cortes en el cabo epididimario del deferente hasta que se encuentren. Después se realiza la anastomosis según la técnica elegida, en dos capas mucomucosa con puntos de 9/10 ceros y otra externa adventiciomuscular con 8/9 ceros, o bien en monocapa que incluye tanto la mucosa como la muscular y adventicia en el punto. Es importante realizar la dilatación del extremo uretral para tratar de igualarlo con el deferente del cabo epididimario, ya que éste se encuentra dilatado por la presión ejercida por la obstrucción (Figuras 3 y 4).

En el caso de que la obstrucción se localice en el epidídimo la técnica a realizar es la tubulovasoanastomosis. La más utilizada es la anastomosis terminolateral de la mucosa del deferente a la luz de un solo vaso del tubo epididimario en el que se haya demostrado la existencia de espermatozoides, fijando posteriormente la adventicia y muscular del deferente a la túnica vaginal del epidídimo. Siempre que se realice una técnica de reconstrucción se debe aprovechar la cirugía para criopreservar los espermatozoides

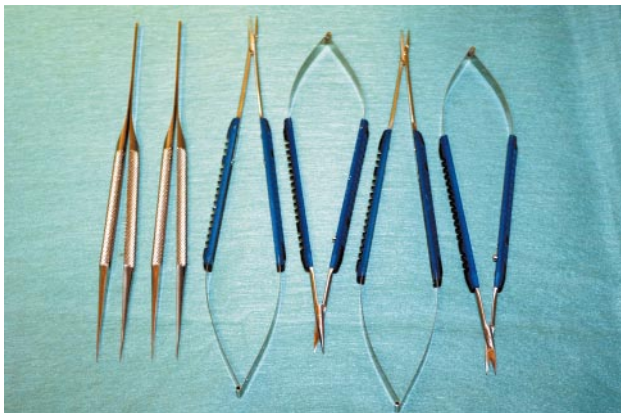


FIGURA 3. Instrumental microquirúrgico



FIGURA 4. Casco con lentes de aumento para microcirugía

obtenidos del tubo epididimario o deferente según el caso, para poderlos utilizar en ciclos ICSI en caso de fracaso de la recanalización.

Los resultados de estas técnicas se ven influidos por muchos factores que pueden ser analizados previamente. Es importante la fertilidad previa, aunque cuando la etiología es una vasectomía no suele representar problemas. Es importante conocer que no existieron complicaciones postoperatorias de la vasectomía como epididimitis, orquitis, granulomas y hematomas. Un factor muy importante es el tiempo de obstrucción ya que estos resultados disminuyen cuando se prolonga el mismo. Así en un paciente con más de 9 años de evolución de su vasectomía disminuye las posibilidades de recanalización a menos del 60%, cuando en vasectomizados de menos de tres años se consiguen cifras de éxito en torno al 90% (44-45). La presencia de anticuerpos antiespermatozoides ASA no tiene un significado clínico claro, se hayan frecuentemente en pacientes vasectomizados, pero no se les encuentra relación clara con el pronóstico de la recanalización (46-47). La existencia o no de granuloma espermático en el lugar de la vasectomía no parece implicar ningún factor pronóstico, aunque siempre se habló de la influencia positiva que como cámara de descompresión podría tener sobre el epidídimo obstruido. Un factor intraoperatorio que si tiene clara relación con el éxito de la recanalización es la calidad y el contenido celular del líquido que fluye por el extremo del deferente. Así cuando el líquido es claro como cristal de roca y contiene espermatozoides móviles repermeabilizan más del 90%, por el contrario solo lo consiguen un 60% (44) aquellos que no tienen espermatozoides móviles o cuando fluye un líquido amarillento espeso. Pero incluso se han comunicado recanalizaciones en casos en los que no fluyó líquido por el extremo del deferente. También parece que cuanto mayor es la longitud del deferente del cabo epididimario mayor es el número y la calidad de los espermatozoides encontrados, bien por la mayor capacidad de adaptación a la obstrucción al disponer de mayor espacio, o bien a que la técnica es más sencilla cuando nos alejamos de la parte proximal del epidídimo que es más fina y arrosariada.

La tubulovasoanastomosis debe de ser realizada solamente en aquellos casos en los que el epidídimo se encuentra obstruido y en aquellos en los que no fluye líquido seminal o este es espeso y amarillento y no contiene espermatozoides en el extremo deferencial del epidídimo.

CONCLUSIONES

Con la evolución de las TRA, sobre todo desde el inicio de la inyección intracistosplasmática, el protocolo diagnóstico y terapéutico, así como el pronóstico de la azoospermia han cambiado de forma radical.

Sin embargo hay ciertas consideraciones prácticas que el andrólogo y el urólogo deben de tener en cuenta:

Es imprescindible que el andrólogo realice una evaluación diagnóstica completa del paciente azoospérmico antes de que este inicie un programa de reproducción asistida.

Siempre que sea posible debe intentarse el diagnóstico etiológico del proceso.

Cuando la causa de una azoospermia sea la obstrucción, salvo que exista alguna razón de peso que lo contraindique, el primer tratamiento a realizar debe de ser quirúrgico para repermeabilizar la vía seminal.

Las azoospermias y oligozoospermias severas conllevan un alto porcentaje de alteraciones genéticas. Se ha detectado un incremento de tres veces sobre la población normal, de las alteraciones cromosómicas en los nacidos tras técnicas ICSI, parece que este aumento no está relacionado con la técnica en sí, sino con la selección de los pacientes a los que se les indica. El conocimiento de las mismas nos llevará en muchos casos a no intentar TRA por ausencia de células haploides válidas para fecundar el ovocito, o al consejo genético y diagnóstico preimplantacional, que en muchos casos desaconsejarán el tratamiento, y en otros permitirá la implantación de embriones que no porten la alteración cromosómica.

La realización de un cariotipo en azoospermia secretora y oligozoospermia severa, debe de ser rutinaria ya que se conoce que en azoospérmicos la presencia de alteraciones cromosómicas se eleva a un 10-15%. Otras técnicas, que desgraciadamente no se realizan de rutina por su complejidad y elevado coste, como son los estudios de meiosis en biopsia testicular o el análisis de los cromosomas espermáticos mediante hibridación in situ con fluorescencia, o técnicas de

PCR para detección de mutaciones puntuales como es el caso de la mutación del gen de la fibrosis quística, deberían irse implementando de rutina, al menos en los casos de alto riesgo, ya que se pueden traspasar a la descendencia enfermedades, o alteraciones como las delecciones del brazo largo del cromosoma Y, estas últimas si bien generaran varones normales, éstos portarán también la alteración y serán muy probablemente azoospérmicos, estaremos por lo tanto contribuyendo de forma importante a la difusión de estas anomalías en la población. Además es conocido que existen varones con azoospermia que presentan cariotipo normal, que cuando completan su estudio genético son portadores de otras alteraciones que no pueden valorarse en el cariotipo mitótico realizado en sangre periférica.

En aquellos varones en los que exista un riesgo de enfermedad hereditaria, como es el caso de la fibrosis quística, hemofilia, distrofias musculares etc se debe realizar diagnóstico preimplantacional con biopsia embrionaria y análisis mediante FISH en casos de enfermedades cromosómicas, o mediante PCR cuando solo se encuentra alterado puntualmente un solo gen, en estos casos también es aconsejable el diagnóstico prenatal con amniocentesis.

Existen prometedoras líneas de futuro, para el tratamiento de los varones con azoospermia secretora como la espermatogénesis in vitro a partir de células precursoras También el autotrasplante de células germinales criopreservadas en pacientes sometidos a radio y quimioterapia por cáncer, abre una puerta esperanzadora.

Como puede verse en este breve repaso, la azoospermia es una patología de actualidad cambiante, dónde las nuevas tecnologías están abriendo puertas no soñadas no hace muchos años, y nos está permitiendo llegar al diagnóstico etiológico de muchas infertilidades masculinas en las que antes, además de no poderles dar solución, no conocíamos su causa.

BIBLIOGRAFIA y LECTURAS RECOMENDADAS (*lectura de interés y **lectura fundamental)

**1. PALERMO, G.; JORIS, H.; DEVROEY, P. y cols.: "Pregnancies after injection of single spermatozoa into an oocyte." Lancet. 340:17. 1992.

2. WORLD HEALTH ORGANIZATION.: "How laboratory manual for the examination of human semen and semen cervical mucus interaction." New York: Cambridge University Prees; 1999.

*3. CHIANG, H.S.; WEI, H.J.; CHEN, Y.T.: "Genetic screening for patients with azoospermia and severe oligo-asthenospermia." Int. J. Androl. 23 suppl2:20. 2000.

**4. OLIVA, R.; BALLESCÁ, J.L.: "Valoración genética de la pareja estéril o infértil." Temas de Actualidad en Andrología I. Ed. Asociación Española de Andrología. Jarpyo Editores. Madrid. 61. 1999.

5. SIMONI, M.; GROMOLL, J.; DWORNICZAK, B. y cols.: "Screening for deletions of the Y chromosome involving the DAZ (Deleted in Azoospermia) gene in azoospermia and severe oligozoospermias." Fertil Steril. 3:55. 1997.

6. SCHOOR, R.A.; ELHANBLY, S.; NIEDERBERGER, C.S. y cols.: "The role of testicular biopsy in the moderm management of male infertility." J. Urol.167:197. 2002.

7. TESARIK, J.; MENDOZA, C.; TESTART, J.: "Viable embryos from inyection of round spermatids into oocytes." New England J. med. 333: 525. 1995.

8. GIL-SALMON ROMERO, J.; RUBIO, C. y cols.: "Testicular sperm extraction and intracytoplasmatic sperm inyection.: A chance of fertility in non-obstructive azoospermia." J. Urol. 160:2063. 1998.

**9. PAGE, D.; SILVER, S.; BROWN, L.: "Men with infertility caused by AZFc delection can produce sons by intracytoplasmatic sperm inyection, but are likely to transmit the deletion and infertility." Human Repord, 14, nº7:1722. 1999.

10. PANG, M.; HOEGERMAN, S.; CUTICCHIA, A. y cols.: "Detection of aneuploidy for chromosomes 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 18, 21, X and Y by fluorescence in-situ hybridization in spermatozoa from nine patients with oligoasthenoteratozoospermia undergoing intracytoplasmatic sperm inyection." Human Reprod 14, nº5:1266. 1999.

11. HOFFMAN, A.R.; CROWLEY, Jr. W.F.: "Induction of puberty in men by long-term pulsatile administration of low-dose gonadotropin releasing hormone." N. Engl. J. Med. 307:1237. 1992.

12. VAN STEIRTEGHEM, A.; VERHEYEN, G.; TOURNAYE, H.: "Assisted reproductive technology by intracytoplasmatic sperm injection in male-factor infertility." Current Opinion in Urology. 6:333. 1996.

*13. JOHNSON, M.: "Genetic risks of intracytoplasmatic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counseling and screening." Fertil Steril. 70:397. 1998.

14. QUINZII, C.; CASTELLANI, C.: "The cystic fibrosis transmembrane regulator gene and male infertility." J. endocrinol Invest. 23:684. 2000.

15. CASALS, T.; RAMOS, M.; GIMÉNEZ, J. y cols.: "High heterogeneity for cystitis fibrosis in hispanish familes: 75 mutations account for 90% of chromosomes." Hum. Genet. 101:365. 1997.

16. KEREM, E.; RAVE-HAREL, N.; AUGARTEN, A.: "A cystic fibrosis transmembrane conductante regulator splice variant with partial penetrance associated with variable cystic fibrosis presentation." Am. J. Crit.

Care Med. 155:1914. 1997.
17. SOKOL, R.: “Infertility in men with cystic fibrosis.” Curr. Opin. Pulm. Med. 7:421. 2001.
18. BLANCO, J.; EGOZCUE, J.; VIDAL, F.: “Meiotic behaviour of the sex chromosomes in three patients with sex chromosome anomalies (XXY, mosaic XY/XXY and XYY) assessed by fluorescence in-situ hybridization.” Hum. Reprod. 16:887. 2001.
19. WEGNER, H.E.; FERST, A.; WEGNER, A.: “Mixed gonadal dysgenesis: a rare cause of primary infertility. Report of two cases and a review of the literature.” Urologe A. 33:342. 1994.
20. BRUGH, V.; MADURO, M.; LAMB, D.: “Genetics disorders and infertility.” Urol. Clin. North. Am. 30:143. 2003.
21. ANTONELLI, A.; GANDINI, L.; PETRINELLI, P. y cols.: “Chromosomal alterations and male infertility.” J. Endocrinol. Invest. 23: 677. 2000.
22. ANDERSSON, M.; PAGE, D.; PETTAY, D. y cols.: “Y; autosome translocations and mosaicism in the aetiology of 45 X maleness: assignment of fertility factor to distal Yq 11.” Hum. Genet. 79:2. 1988.
*23. TIEPOLO, L.; ZUFFARDI, O.: “Localization of factors controling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm.” Hum. Genet. 34:119. 1976.
*24. ZUFFARDI, O.; TIEPOLO, L.: “Frequencies and types of chromosome abnormalities associated with human male infertility. En : Genetic Control of Gamete Production and Function.” Serono Clinical Colloquia on Reproduction III. London. Academic Press, Crosignani PG, Rubin BL (eds); 261. 1982.
*25. VOGT, P.H.; EDELMAN, A.; KIRSCH, S. y cols.: “Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11.” Hum. Mol. Genet. 5:933. 1996.
26. FORESTA, C.; MORO, E.; FERLIN, A.: “Y cromosoma microdeletions and alterations of espermatogénesis.” Endocrinol. Rev. 22:226. 2001.
27. OLIVA, R.; MARGARIT, E.; BALLESCÁ, J.: “Prevalence of Y chromosome microdelections in oligospermic and azoospermic candidates for intracytoplasmic sperm inyection.” Fertil Steril. 70:506. 1998.
28. MARTINEZ, M.; BERNABÉ, M.; GÓMEZ, E.: “Screening for AZF delection in a large series of severly impaired spermatogenesis patients.” J. Androl. 21:651. 2000.
29. KENT-FRIST, M.; KOL, S.; MUALLEM, A.: “The incidence and possible relevance of Y-linked microdelection in babies borm after intracytoplasmic sperm inyection and their infertile fathers.” Mol. Human Reprod. 2:943. 1996.
30. 30 TOURMAYE, H.; MERDAD, T.; SILVER, S.: “No differences in outcome after intracytosplasmatic sperm inyection with fresh or with frozen-thawed epididimal spermatozoa.” Hum. Reprod. 14:90. 1999.
31. SILBER, S.: “Microsurgical TESE and the distribution of spermatogenesis in non-obstructive azoospermia.” Hum. Reprod. 15:2278. 2000.
32. BELKER, A.; SHERINS, R.; DENNISON-LAGOS, L.: “Percutaneous testicular sperm aspiration: a convenient and effective office procedure to retrieve sperm for in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm inyection.” J. Urol. 160:2058. 1998.
33. 33 TOURNAYE, H.; CLASEN, L.; AYTOZ, A.: “Fine needle aspiration versus open biopsy for testicular sperm recovery: a controlled study in azoospermic patients with normal espermatogénesis.” Hum. Reprod. 13: 901. 1998.
34. FISHEL, S.; GREEN, S.; BISHOP, M.: “Pregnancy after intracytoplasmic inyection of a spermatid.” Lancet. 345:1841. 1995.
35. GHAZZAWI, I.; ALHASANI, S.; TAHER, M.: “Reporductive capacity of round spermatids compared with mature spermatozoa in a population of azoospermic men.” Human Reprod. 14:736. 1999.
36. TESARIK, J.; GUIDO, M.; MENDOZA, C. y cols.: “Human spermatogensis in vitro: Respectived effects of follicle-stimulating hormona and testosterone on meiosis, spermiogenesis, and sertoli cell apoptosis.” J. Clin. Endocrinol. Metab. 83:4467. 1998.
37. KOLETTIS, P.; SABANEGII, E.; D´AMICO, A.: “Outcomes for vasectomy reversal performed after obstructive intervals of at least 10 years.” Urology. 60:885. 2002.
38. JARROW, J.: “Transrectal ultrasonography of infertile men.” Fertil Steril. 60:1035. 1993.
39. VICENTE, J.; RUIZ-CASTAÑÉ, E.: “Cirugía endoscópica del utriculocele.” Arch. Esp. Urol. 43: 279. 1990.
40. GOLUBOFF, E.; STIFELMAN, M.; FISCO, H.: “Ejaculatory duct obstruction in infertile male.” Urol. Nephrol. 29:345. 1995.
41. JAROW, J.: “Diagnosis and management of ejaculatory duct obstruction.” Tech. Urol.2:79. 1996.
42. HOWARD, G.: “Who asks for vasectomy reversal and why?” BMJ. 285: 490. 1982.
43. “Our experience with simplified vasovasostomy. Review of our results during the last 5 years.”Arch. Esp. Urol. 57:59. 2004.
44. HOLMAN, C.; WISNIEWSKI, Z.; SEMMENS, J.: “Population-based outcomes after 28246 in hospital vasectomies and 1902 vasovasoanastomosis in Western Australia.” Br. J. Urol. Int. 86:1043. 2000.
45. BELKER, A.; THOMAS, A.; FUCHS, E.: “Results of 1469 microsurgical vasectomy reversals by the Vasovasostomy Study Group.” J. Urol. Nurs. 11:93. 1992.
46. HAAS, Jr. G.: “Antibody mediated cause of male infertility.” Urol. Clin. North. Am. 14:539. 1987.
47. LINNET, L.; HJORT, T.; FOGH-ANDERSEN, P.: “Association between failure to impregnate after vasovasostomy and sperm agglutinins in semen.” Lancet. 17:117. 1981.