

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

BÁRBARA GASPARINI BERNARDES

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS EM HOMENS COM ALTERAÇÕES
ESPERMÁTICAS QUE BUSCAM SERVIÇO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

BAURU
2022

BÁRBARA GASPARINI BERNARDES

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS EM HOMENS COM ALTERAÇÕES
ESPERMÁTICAS QUE BUSCAM SERVIÇO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como parte dos requisitos para obtenção do
título de bacharel em Biomedicina - Centro
Universitário Sagrado Coração.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti.

BAURU
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

B518p	<p>Bernardes, Bárbara Gasparini</p> <p>Principais alterações citogenéticas em homens com alterações espermáticas que buscam serviço de reprodução assistida / Bárbara Gasparini Bernardes. -- 2022. 22f. : il.</p> <p>Orientadora: Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Alterações citogenéticas. 2. Alterações espermáticas. 3. Infertilidade masculina. 4. Polimorfismos. I. Peruquetti, Rita Luiza. II. Título.</p>
-------	--

BÁRBARA GASPARINI BERNARDES

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS EM HOMENS COM ALTERAÇÕES
ESPERMÁTICAS QUE BUSCAM SERVIÇO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como parte dos requisitos para obtenção do
título de bacharel em Biomedicina - Centro
Universitário Sagrado Coração.

Aprovado em: ___ / ___ / ____.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti (Orientadora)
Centro Universitário Sagrado Coração

Prof.^a Dra. Érica Boarato David
Centro Universitário Sagrado Coração

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me abençoar e me guiar todos os dias da minha vida e a Santa Rita de Cássia por ser a minha protetora e interceder por mim.

A minha mãe, ao meu pai e a minha irmã por sempre me apoiarem, me incentivarem a seguir os meus sonhos e por fazerem o impossível por mim e para a minha felicidade, sem vocês eu não seria nada.

Aos meus tios, primas e amigos que acompanharam de perto toda a minha trajetória, torceram por mim e sempre me fizeram acreditar que tudo daria certo.

Aos amigos maravilhosos que eu fiz nestes quatro anos de curso, Ana Luisa, André, Beatriz, Camilla, Daniely, Letícia, Lívia e Stephane, vocês foram essenciais. Obrigada pela parceria, troca de experiências e por me fazerem ser uma pessoa melhor, levarei vocês sempre em meu coração.

Aos docentes, por todo aprendizado transmitido, por serem exemplos de profissionais e por me fazerem ficar ainda mais apaixonada pela Biomedicina. Em especial agradeço a minha orientadora Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti, por toda paciência e atenção.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de Cariótipos e Espermogramas Alterados frente à Constituição Cromossômica dos pacientes.....	13
Tabela 2 - Cariótipos contendo polimorfismos correlacionados ao tipo de alteração espermática encontrada e a frequência.	14
Tabela 3 - Cariótipos contendo alterações estruturais correlacionados ao tipo de alteração espermática encontrada e a frequência.	15

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	11
3	METODOLOGIA	12
3.1	CASUÍSTICA	12
3.2	MÉTODOS	12
4	RESULTADOS	13
5	DISCUSSÃO	16
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
	REFERÊNCIAS	19
	APÊNDICE A – TERMO DE AQUIESCÊNCIA (LABORATÓRIO GENOS)	21
	APÊNDICE B – TERMO DE AQUIESCÊNCIA (CLÍNICA FERTILITY)	22

PRINCIPAIS ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS EM HOMENS COM ALTERAÇÕES ESPERMÁTICAS QUE BUSCAM SERVIÇO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Bárbara Gasparini Bernardes¹ (barbaragbernardes@hotmail.com)

Vinícius Contrucci Dantas Segarra² (vicontrucci@usp.br)

Lívia Nardi Lopes³ (livianardi@hotmail.com)

Rita Luiza Peruquetti⁴ (rita.peruquetti@unisagrado.edu.br)

^{1,4}Área da Saúde - Centro Universitário Sagrado Coração (UNISAGRADO)

²Departamento de Genética Clínica e Biologia Molecular – Hospital de Reabilitação em Anomalias Craniofaciais (HRAC) – Universidade de São Paulo (USP)

³Laboratório GENOS – Bauru/SP

RESUMO

A infertilidade humana é definida como a incapacidade de conseguir engravidar em um determinado período ou o não sucesso em ter outra gravidez após uma concepção bem-sucedida. É considerada um problema de saúde pública, podendo ocorrer devido a fatores femininos, masculinos, uma combinação entre eles ou de natureza idiopática. O fator masculino é responsável por 50% dos casos de infertilidade conjugal, sendo que o diagnóstico é realizado através de exames físicos, avaliações hormonais e genéticas, além da análise seminal e da estrutura da cromatina espermática. O presente estudo busca ampliar o conhecimento sobre a relação entre as principais alterações citogenéticas e parâmetros espermáticos, em pacientes que buscaram serviço de reprodução assistida, e como essa correlação pode impactar na infertilidade masculina. A maior parte das alterações genéticas encontradas foram polimorfismos, seguido de alterações estruturais e em menor quantidade alterações numéricas. O polimorfismo mais frequente foi o 46,XY,qh+, estando presente em 50% dos cariótipos caracterizados com essa alteração, além de estarem associados com algumas alterações espermáticas. É conhecido que o aumento da heterocromatina e alterações no cromossomo Y podem influenciar na expressividade de determinados genes e na formação das células germinativas, respectivamente. A infertilidade masculina tem aumentado nos últimos anos e as causas genéticas são uma das principais consequências disso, sendo importante a realização do exame para o diagnóstico da infertilidade.

Palavras-chave: Alterações citogenéticas. Alterações espermáticas. Infertilidade masculina. Polimorfismos.

MAIN CYTOGENETIC ALTERATION IN MEN WITH LOW SPERM QUALITY SEEKING ASSISTED REPRODUCTION SERVICE

Bárbara Gasparini Bernardes¹ (barbaragbernardes@hotmail.com)
Vinícius Contrucci Dantas Segarra² (vicontrucci@usp.br)
Lívia Nardi Lopes³ (livianardi@hotmail.com)
Rita Luiza Peruquetti⁴ (rita.peruquetti@unisagrado.edu.br)

^{1,4} Health Department - Sagrado Coração University Center (UNISAGRADO)

²Department of Clinical Genetics and Molecular Biology – Hospital for Rehabilitation in Craniofacial Anomalies (HRAC) – University of São Paulo (USP)

³GENOS Laboratory – Bauru/SP

ABSTRACT

Human infertility is defined as the inability to become pregnant within a given period or the failure to have another pregnancy after a successful conception. It is considered a public health problem, and may occur due to female or male factors, a combination of them, or idiopathic. The male factor is responsible for 50% of cases of marital infertility, and the diagnosis is made through physical examinations, hormonal and genetic evaluations, seminal analysis, and sperm chromatin structure. The present study seeks to increase knowledge about the relationship between the main cytogenetic alterations and sperm parameters in patients who sought assisted reproduction services, and how this correlation can impact male infertility. Most of the genetic alterations found were polymorphisms, followed by structural alterations and, to a lesser extent, numerical alterations. The most frequent polymorphism is present in 50% of the karyotypes characterized with this alteration was 46,XY,qh+, in addition to being associated with some sperm alterations. It is also verified that the increase in heterochromatin and alterations in the Y chromosome can influence the expression of certain genes and the formation of germ cells, respectively. Male infertility has increased in recent years and genetic causes are one of the main consequences of this, making it important to perform the test for the diagnosis of infertility.

Keywords: Cytogenetic alterations. Sperm alterations. Male infertility. Polymorphisms.

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a infertilidade humana é definida como a incapacidade de conseguir engravidar após, no mínimo, doze meses de relações sexuais regulares e sem a utilização de métodos contraceptivos. Essa condição afeta milhões de pessoas em idade reprodutiva e é considerada um problema de saúde pública, podendo ocorrer devido a fatores femininos, masculinos, uma combinação entre esses fatores ou de natureza idiopática (KHIAVI *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2011; WHO, 2022). Pode-se classificar como primária a incapacidade de engravidar e secundária o não sucesso em ter outra gravidez após uma concepção bem-sucedida (ALVES *et al.*, 2021; KHIAVI *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A infertilidade masculina é um fenótipo que pode ser determinado pela ação de múltiplos órgãos, como a hipófise, as gônadas e o hipotálamo. Esse fenótipo é influenciado por fatores ambientais e de estilo de vida, como idade, exposição a agentes físicos e químicos, consumo excessivo de álcool, obesidade e uso de medicações, os quais levam a alterações no processo de espermatogênese (GRANGEIRO, 2018).

A avaliação da fertilidade abrange a análise do casal, em que o fator masculino é responsável por 50% dos casos de infertilidade conjugal, sendo 30% associado ao fator feminino e 20% isoladamente (ASRM, 2015; GRANGEIRO, 2018; PAQUALOTTO, 2007). Normalmente é definido por anormalidades nos parâmetros seminais, porém, pode ocorrer mesmo quando essa análise apresenta-se normal (ASRM, 2015; GRANGEIRO, 2018; KHIAVI *et al.*, 2019). É uma condição multifatorial e pode ser diagnosticada através de exames físicos, avaliações hormonais e genéticas, além da análise seminal e da estrutura da cromatina espermática (PAQUALOTTO, 2007).

O primeiro passo para o diagnóstico é a análise do sêmen, por meio da realização do espermograma. Esse exame disponibiliza informações sobre a atividade germinativa, atuação das glândulas sexuais acessórias e dos epidídimos (FEIJÓ *et al.*, [20--]; ZHANG *et al.*, 2014). Consiste em duas análises, a macroscópica e a microscópica, sendo que a primeira inclui as características físicas do sêmen, como viscosidade, coloração, pH, coagulação, aspecto, liquefação e volume. Enquanto que a análise microscópica abrange a motilidade espermática, quantificação do número de leucócitos, morfologia, concentração e vitalidade (FEIJÓ *et al.*, [20--]; ZHANG *et al.*, 2014). Portanto, não é apenas a quantidade de espermatozoides que indica fertilidade, mas sim a sua capacidade funcional (PASQUALOTTO, 2007).

Além da análise seminal, são realizados testes genéticos mais específicos, como análise do gene regulador da condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR), cariótipo, reação em cadeia da polimerase (PCR) para microdeleção do cromossomo Y, técnicas de bandeamento e análise de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) do material espermático (ALVES *et al.*, 2021; KRAUSZ *et al.*, 2018; PASQUALOTTO, 2007). Há um aumento no diagnóstico de anormalidades genéticas ligadas a infertilidade masculina, sendo que as três mais frequentemente relatadas são mutações gênicas, aberrações cromossômicas e a microdeleção do cromossomo Y (PASQUALOTTO, 2007).

As alterações espermáticas mais recorrentes e relacionadas a alterações genéticas são oligozoospermia (contagem reduzida do número de espermatozoides) e azoospermia (ausência de espermatozoides). Estudos mostraram que pacientes com esses padrões apresentam com maior frequência anormalidades cromossômicas como a Síndrome de Klinefelter (47,XXY), a qual é caracterizada pela dissomia do cromossomo X, microdeleções do cromossomo Y, translocações (Robertsoniana e recíproca), inversões e cariótipo anormal, as quais afetam diretamente a fertilidade (DANESHMANDPOUR *et al.*, 2019; DOHLE *et al.*, 2002; KRAUSZ *et al.*, 2018; PASQUALOTTO, 2007).

Ademais, existem anormalidades qualitativas, como astenozoospermia (reduzida motilidade), teratozoospermia (morfologia anormal) e a aspermia (ausência de ejaculado) que podem estar presentes em alguns casos (DANESHMANDPOUR *et al.*, 2019). Aproximadamente 23% dos homens inférteis possuem oligozoospermia grave, enquanto que 38% apresentam azoospermia (KIM *et al.*, 2012).

Os genes relevantes para a fertilidade estão localizados na região da heterocromatina dos cromossomos, sendo importantes para que a herança cromossômica seja normal. Essa região atua na união do fuso mitótico, no pareamento da meiose, na divisão celular, na regulação dos genes e na coesão das cromátides irmãs. As variações estruturais dos cromossomos são chamadas de polimorfismos (heteromorfismos), apresentando-se com maior frequência em indivíduos inférteis (OLIVEIRA *et al.*, 2011). A realização do exame citogenético é de extrema importância para o diagnóstico de casais inférteis, pois ele é responsável por identificar anormalidades cromossômicas e informa sobre possíveis malformações congênitas (ALVES *et al.*, 2021).

Porém, mesmo com as diversas técnicas para ampliar as taxas de obtenção de gravidez, a diminuição da fertilidade ainda é um problema, causando grande efeito para a população (ALVES *et al.*, 2021). Com isso, o presente estudo busca ampliar o conhecimento sobre a relação entre alterações citogenéticas e parâmetros espermáticos, em pacientes que

buscaram serviço de reprodução assistida, e como essa correlação pode impactar na infertilidade masculina, visando o aumento da demanda por esses exames por casais que não conseguem engravidar.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo avaliar a correlação entre as principais alterações citogenéticas e parâmetros espermáticos em pacientes que realizaram exames de cariótipo no Laboratório Genos e espermogramas na Clínica Fertility, ambos localizados em Bauru (SP), e avaliar a sua importância na infertilidade masculina.

3 METODOLOGIA

3.1 CASUÍSTICA

A partir dos laudos das amostras coletadas de pacientes encaminhados ao Laboratório Genos, localizado em Bauru (SP) no Centro de Diagnóstico da Unimed (Rua Agenor Meira, 12-34), no período entre Janeiro de 2015 a Junho de 2020, observou-se 62 com alterações citogenéticas. Com isso, foi realizado um levantamento para detectar se os mesmos pacientes com alterações citogenéticas possuíam confirmação de espermogramas alterados, a partir de exames realizados na Clínica Fertility, localizada na Clínica Integra (Avenida Comendador José da Silva Martha, 3-30, Bauru-SP). Os pacientes com exames analisados no presente estudo foram previamente atendidos por profissionais médicos e possuem indicação de infertilidade. O número total de pacientes que apresentaram ambos os critérios de inclusão neste estudo foi de 38. As autorizações para a análise dos prontuários foram obtidas das instituições parceiras (Laboratório Genos e Clínica Fertility).

3.2 MÉTODOS

Para a análise citogenética foi realizado o cariótipo de sangue periférico com bandeamento G e C, por meio das metodologias adotadas pelo Laboratório Genos, em que dez metáfases foram cariotipadas pelo método convencional e outras dez foram contadas a partir do software GeneAll®. Enquanto que, os espermogramas foram realizados por meio da metodologia adotada na Clínica Fertility, seguindo as diretrizes estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Os resultados foram tabulados e organizados em três tabelas, sendo a primeira com um panorama geral dos dados coletados, e as outras duas com relação aos polimorfismos e alterações estruturais, respectivamente.

4 RESULTADOS

A apresentação inicial dos dados nos permite avaliar o número total de cariótipos alterados, bem como o tipo de alteração citogenética, e o número total de espermogramas alterados para cada constituição genética (Tabela 1). É possível constatar que a maior parte das alterações genéticas encontradas foram polimorfismos, seguido de alterações estruturais e em menor quantidade alterações numéricas.

Tabela 1 – Número de Cariótipos e Espermogramas Alterados frente à Constituição Cromossômica dos pacientes.

Constituição Cromossômica	Cariótipos	Espermogramas Alterados
<i>Polimorfismos</i>	<i>n = 48</i>	<i>n = 28</i>
46,XY,qh+	24	12
46,XY,9qh+	5	2
46,XY,22ps+	3	2
46,XYqh+,22ps+	3	3
46,XY,1qh+	2	1
46,XYqh+,1qh+	2	2
46,XYqh+,9qh+	2	1
46,XYqh+,9qh+,16qh+	1	1
46,XYqh+,9qh+,14cenh+	1	0
46,XY,21ps+	1	1
46,XY,16qh+,22ps+	1	1
46,XY,9qh+,15ps+	1	0
46,XY,16qh-	1	1
46,XYqh-	1	1
<i>Alterações Estruturais</i>	<i>n = 11</i>	<i>n = 8</i>
46,XY,inv(9)(p12q13)	4	1
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)	3	3
46,XY,inv(9)(p11q13)	1	1
45,XY,rob(14;21)(q10;q10)	1	1
46,XY,del(22)(q?)	1	1
46,XX,add(14)(p13)	1	1
<i>Alterações Numéricas</i>	<i>n = 3</i>	<i>n = 2</i>
47,XYY	1	0
mos 47,XXY(2)/46,XY(48)	1	1
mos 47,XY,+21(3)/46,XY(47)	1	1
<i>Total Geral</i>	<i>n = 62</i>	<i>n = 38</i>

Fonte: Elaborada pela autora.

Com relação ao número de espermogramas alterados, comparando-se com o total de cariótipos realizados, as alterações estruturais se destacaram com 72% de pacientes que possuíam alterações espermáticas. Enquanto que 66% dos pacientes que apresentaram alterações numéricas possuíam espermogramas alterados. E entre os pacientes que possuem algum tipo de polimorfismo, 58% apresentaram alterações espermáticas. É importante ressaltar que alguns pacientes apresentaram mais de um tipo de alteração em um mesmo espermograma (Tabela 2).

Dentro dos polimorfismos a alteração mais frequente foi o cariótipo 46,XY,qh+, sendo que de 24 cariótipos realizados, 50% apresentaram espermogramas alterados. Dentre as alterações estruturais, a inversão pericêntrica do cromossomo 9 foi a mais frequente, sendo seguida da translocação Robertsoniana entre os cromossomos 13 e 14, com mais de 50% delas também apresentando alterações espermáticas.

Como as alterações genéticas mais frequentes foram os polimorfismos, na Tabela 2 realizou-se o agrupamento das constituições cromossômicas mais incidentes juntamente com as alterações espermáticas específicas encontradas, bem como suas frequências em relação à constituição cromossômica.

Tabela 2 - Cariótipos contendo polimorfismos correlacionados ao tipo de alteração espermática encontrada e a frequência.

Constituição Cromossômica	Nº de Cariótipos (Total)	Nº de Espermogramas (Total)	Alterações Espermáticas	Nº de Espermogramas Alterados	Frequência em relação à Constituição Cromossômica
46,XY,qh+	24	12	Astenozoospermia	10	42%
			Teratozoospermia	9	38%
			Oligozoospermia	8	33%
			Necrozoospermia	2	8%
			Azoospermia	1	4%
46,XY,9qh+	5	2	Oligozoospermia	2	40%
			Teratozoospermia	2	40%
46,XY,22ps+	3	2	Oligozoospermia	2	67%
			Teratozoospermia	2	67%
46,XYqh+,22ps+	3	3	Astenozoospermia	2	67%
			Oligozoospermia	2	67%
			Teratozoospermia	1	33%

Fonte: Elaborada pela autora.

No polimorfismo 46,XY,qh+ (n=24), as alterações espermáticas mais frequentes em relação à constituição cromossômica foram, respectivamente, astenozoospermia (42%), teratozoospermia (38%) e oligozoospermia (33%). A necrozoospermia e a azoospermia estiveram presentes, porém em baixas quantidades.

Os demais polimorfismos mais frequentes (46,XY,9qh+ e 46,XY,22ps+) (n=8), correspondem a 16% dos polimorfismos detectados e nos dois as alterações espermáticas mais frequentes foram a oligozoospermia e a teratozoospermia. Já na constituição cromossômica 46,XYqh+,22ps+, 100% dos pacientes que realizaram o cariótipo apresentaram espermogramas alterados, sendo as alterações mais frequentes astenozoospermia (67%), oligozoospermia (67%) e em menor quantidade teratozoospermia (33%).

O segundo grupo de alterações genéticas mais frequentes foram as alterações estruturais. Portanto, na Tabela 3 realizou-se o agrupamento das constituições cromossômicas mais incidentes juntamente com as alterações espermáticas específicas encontradas, bem como suas frequências em relação à constituição cromossômica.

Tabela 3 - Cariótipos contendo alterações estruturais correlacionadas ao tipo de alteração espermática encontrada e a frequência.

Constituição Cromossômica	Nº de Cariótipos (Total)	Nº de Espermogramas (Total)	Alterações Espermáticas	Nº de Espermogramas Alterados	Frequência em relação à Constituição Cromossômica
46,XY,inv(9)(p12q13)	4	1	Oligozoospermia	1	25%
			Teratozoospermia	1	25%
			Oligozoospermia	3	100%
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)	3	3	Astenozoospermia	2	67%
			Necrozoospermia	1	33%
			Teratozoospermia	1	33%

Fonte: Elaborada pela autora.

Os dados demonstram que quatro pacientes apresentaram inversão pericêntrica do cromossomo 9, porém apenas um possuía espermograma alterado, sendo que as alterações espermáticas presentes neste paciente eram oligozoospermia e teratozoospermia. Enquanto que, entre os três pacientes com translocação Robertsoniana envolvendo os cromossomos 13 e 14 (45,XY,rob(13;14)(q10q10)), 100% possuíam espermogramas alterados com oligozoospermia, 67% apresentaram astenozoospermia, 33% necrozoospermia e 33% teratozoospermia.

5 DISCUSSÃO

A infertilidade masculina é um problema de saúde pública que tem aumentado nos últimos anos, sendo que as causas genéticas são uma das principais consequências disso (BORGES; MACEDO, 2016). Com isso, no presente estudo foi realizado um levantamento de dados de 62 homens que buscaram serviço médico para a avaliação da fertilidade, analisando as alterações citogenéticas mais frequentes e a sua relação com alterações espermáticas no diagnóstico da infertilidade.

Os polimorfismos, que são alterações estruturais consideradas silenciosas, foram os mais encontrados e ocorrem com maior prevalência em indivíduos inférteis. Essas variantes costumam ser um achado comum na rotina do laboratório de citogenética, pelo método de bandeamento, e mesmo não possuindo efeito fenotípico específico, podem interferir no processo de meiose e resultar na produção de gametas desbalanceados, com duplicações e deleções, gerando descendentes com cariótipo anormal ou abortos. O aumento ou diminuição da heterocromatina pode ser identificado nos cromossomos autossomos 1, 9, 16 e no cromossomo sexual Y, sendo marcados como qh⁺ ou qh⁻. Nos autossomos há um aumento na região centromérica, enquanto que no sexual ocorre na porção distal do braço longo (ALVES *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Os genes de interesse para a viabilidade e fertilidade estão localizados na região da heterocromatina dos cromossomos, sendo fundamentais para que a herança cromossômica seja normal. A heterocromatina é responsável pela movimentação cromossômica durante a divisão celular, no pareamento meiótico, na junção do fuso mitótico, na coesão das cromátides irmãs e na regulação gênica. Sendo assim, o aumento da heterocromatina pode acarretar problemas no pareamento, na não disjunção dos cromossomos na meiose e influenciar a expressividade de determinados genes, resultando em abortos, mortes neonatais ou descendentes cromossomicamente anormais (ALVES *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

O polimorfismo 46,XY,qh⁺ foi a alteração genética que mais se destacou, em que do total de pacientes aproximadamente 38% apresentaram esse aumento da heterocromatina no cromossomo Y. Ademais, pode-se verificar que dos que possuíam essa variação, 50% apresentaram espermogramas alterados, sendo as alterações espermáticas mais frequentes astenozoospermia, teratozoospermia e oligozoospermia.

O cromossomo Y é necessário para a determinação sexual masculina, além da formação e manutenção de células germinativas. O braço curto é responsável pelo

desenvolvimento dos testículos e o braço longo pelos fatores envolvidos na espermatogênese. Tanto o aumento quanto a diminuição da heterocromatina podem estar relacionados com microdeleções no braço longo desse cromossomo e estão associados com falhas no processo de espermatogênese. Essas microdeleções representam a causa genética molecular mais comum da infertilidade masculina e resultam de recombinações homólogas entre sequências de DNA repetitivas (BORGES; MACEDO, 2016; FAN; SILBER, 2002; SANTOS, 2011).

Os genes da região AZF (Fator para Azoospermia) são considerados críticos para a espermatogênese e estão localizados no intervalo 5-6 da banda Yq1153. Essa região pode conter um ou um conjunto de genes e compreendem três distintas sub-regiões: AZFa (porção proximal), AZFb (porção mediana), AZFc (porção distal), sendo que cada uma é responsável por uma etapa da espermatogênese e a deleção de alguma dessas áreas podem causar efeitos negativos no processo de proliferação e diferenciação das células germinativas. A primeira sub-região está relacionada com erros na fase pré-mitótica, já na segunda existem duas proteínas funcionais, as quais são relevantes na formação dos gametas. Por fim, na subregião AZFc contém o gene DAZ (Deletado em Azoospermia), o qual muitas vezes está ausente em pacientes com azoospermia não obstrutiva ou oligozoospermia grave. Ademais, alguns estudos demonstraram microdeleções em uma região distinta chamada AZFd, a qual localiza-se entre a AZFb e AZFc55, sendo que essa área estaria associada a oligozoospermia leve e teratozoospermia (BORGES; MACEDO, 2016; FAN; SILBER, 2002; LIMA *et al.*, 2020; SANTOS, 2011).

Alguns estudos apontam que a infertilidade do cromossomo Y é herdada ao Y. Assim, os filhos do sexo masculino apresentam a mesma deleção do pai, possuindo alto risco de infertilidade. Porém, algumas deleções não causam necessariamente infertilidade, sendo apenas um fator de risco para tal evento (FAN; SILBER, 2002; SANTOS, 2011).

Por fim, as anomalias cromossômicas estruturais e numéricas, os heteromorfismos, as microdeleções do cromossomo Y e alterações epigenéticas são fatores que influenciam no processo de espermatogênese e na qualidade espermática. Além disso, pode-se verificar que o estilo de vida também é um possível fator para uma espermatogênese ineficaz. A qualidade do sêmen pode ser afetada por diversas causas, como obesidade, sedentarismo, varicocele, diabetes, tabagismo, entre outros fatores (FARIAS JUNIOR, 2018; GRANGEIRO, 2018).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora os polimorfismos genéticos sejam as alterações cariotípicas mais frequentemente observadas em homens que buscam serviços de fertilidade, em nossa amostra somente 58% destes homens apresentaram alterações espermáticas que possam estar associadas com o quadro de infertilidade instalado. Nestes homens com alterações polimórficas, as alterações espermáticas podem estar correlacionadas com silenciamento gênico, causado pelo aumento de heterocromatina, em genes importantes para determinação de fertilidade, principalmente os localizados nos cromossomos Y e 9. Apesar de menos frequentes em nosso estudo, as alterações estruturais e numéricas demonstraram ter um maior efeito deletério sobre a fertilidade, visto que 72% dos pacientes que as apresentavam também tiveram alterações espermáticas associadas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Raíssa Zimmermann *et al.* Alterações citogenéticas associadas a infertilidade humana/Cytogenetic alterations associated with human infertility. **Brazilian Applied Science Review**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 542-557, 2021. Brazilian Applied Science Review. <http://dx.doi.org/10.34115/basrv5n1-034>.
- ASMR, American Society For Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. **Fertility And Sterility**, Birmingham, Alabama, v. 103, n. 3, p. 18-25, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.12.103>.
- BORGES, Caio Henrique de Souza; MACEDO, Luciana Conci. Infertilidade masculina decorrente de microdeleções no cromossomo Y. **Reprodução & Climatério**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 169-174, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2015.12.006>.
- DANESHMANDPOUR, Yousef *et al.* MicroRNAs association with azoospermia, oligospermia, asthenozoospermia, and teratozoospermia: a systematic review. **Journal Of Assisted Reproduction And Genetics**, [S.L.], v. 37, n. 4, p. 763-775, 18 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01674-9>.
- DOHLE, G.R. *et al.* Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. **Human Reproduction**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 13-16, 1 jan. 2002. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/17.1.13>.
- FAN, Yuting; SILBER, Sherman J. Y Chromosome Infertility. **GeneReviews® [Internet]**, Seattle (Wa): University Of Washington, Seattle. p. 1-17, out. 2002 [Atualizado em ago. 2019].
- FARIAS JUNIOR, Lincoln Bastos. **Morfologia do espermatozoide: uma revisão atualizada de técnicas no diagnóstico de análises clínicas**. 2018. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.
- FEIJÓ, Cinthia Manzzi *et al.* Espermograma. In: DZIK, Artur *et al.* **Atlas de Reprodução Humana**. [S.L.]: Segmento Farma, 2012. p. 45-54.
- GRANGEIRO, Carlos Henrique Paiva. **Avaliação genômica da infertilidade masculina idiopática por azoospermia não obstrutiva**. 176 f. Tese (Doutorado). Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2018.
- KHIAVI, Mostafa Akbarzadeh *et al.* Karyotypic abnormalities and molecular analysis of Y chromosome microdeletion in Iranian Azeri Turkish population infertile men. **Systems Biology In Reproductive Medicine**, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 140-146, 5 nov. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/19396368.2019.1682083>.
- KIM, Min Jee *et al.* Molecular and cytogenetic studies of 101 infertile men with microdeletions of Y chromosome in 1,306 infertile Korean men. **Journal Of Assisted Reproduction And Genetics**, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 539-546, 29 mar. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-012-9748-4>.

KRAUSZ, Csilla *et al.* Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. **Expert Review Of Molecular Diagnostics**, [S.L.], v. 18, n. 4, p. 331-346, 22 mar. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14737159.2018.1453358>.

LIMA, Isabela Barros *et al.* O polimorfismo dos genes GSTM1 e GSTT1 em pacientes com microdeleção na região AZF. **Brazilian Journal Of Development**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 21885-21899, 2020. Brazilian Journal of Development. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n4-381>.

OLIVEIRA, Mariana Angelozzi de *et al.* Alterações no cariótipo que podem gerar infertilidade ou abortamento de repetição. **Femina**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 91-96, fev. 2011.

PASQUALOTTO, Fábio Firmbach. Investigação e reprodução assistida no tratamento da infertilidade masculina. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Caxias do Sul, p. 103-112, jan. 2007.

SANTOS, Gleice Cristina dos. **Prevalência de microdeleções nas regiões AZFA, AZFB e AZFC do cromossomo Y em indivíduos com oligozoospermia ou azoospermia em mato grosso**. 2011. 59 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2011.

WHO, World Health Organization. **Infertility**. 2022. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab_1. Acesso em: 04 ago. 2022.

ZHANG, Erhong *et al.* Effect of Sperm Count on Success of Intrauterine Insemination in Couples Diagnosed with Male Factor Infertility. **Materia Socio Medica**, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 321, 2014. ScopeMed. <http://dx.doi.org/10.5455/msm.2014.26.321-323>.

APÊNDICE A – TERMO DE AQUIESCÊNCIA (LABORATÓRIO GENOS)



TERMO DE AQUIESCÊNCIA

Eu, Livia Nardi Lopes, farmacêutica, sócia-proprietária e responsável técnica do Laboratório Genos, da Cidade de Bauru, autorizo o aluno Vinicius Contrucci Dantas Segarra, RG 548205802, a realização e utilização das informações obtidas no laboratório para o trabalho de conclusão de curso, intitulado “Associação de parâmetros genéticos e espermáticos: um estudo retrospectivo” do curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sagrado Coração/UNISAGRADO, orientado pela Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti.

Esta autorização está sendo concedida desde que as seguintes premissas sejam respeitadas: as informações serão utilizadas unicamente e exclusivamente para a execução do presente trabalho; o aluno se compromete a preservar as demais informações obtidas, garantindo sigilo e privacidade, assim como o nome deste laboratório.

De acordo,

Bauru, 18 de Setembro de 2020.

Livia Nardi Lopes
Sócia-proprietária e responsável técnica – Laboratório Genos

Vinicius Contrucci Dantas Segarra
Aluno responsável pelo trabalho –
UNISAGRADO

Rita Luiza Peruquetti
UNISAGRADO

APÊNDICE B – TERMO DE AQUIESCÊNCIA (CLÍNICA FERTILITY)



FERTILITY
MEDICAL GROUP

AVENIDA COMENDADOR JOSÉ DA SILVA MARTHA, 3-30
JD. ESTORIL I - CEP 17016.080 - BAURU/SP
FONE (14) 3223-2544

e-mail: fertility@fertility.com.br
web site: <http://www.fertility.com.br>

TERMO DE AQUIESCÊNCIA

Eu, Aguinaldo Cesar Nardi, médico, diretor clínico da Clínica Integra e Fertility Bauru, da Cidade de Bauru, autorizo o aluno Vinicius Contrucci Dantas Segarra, RG 548205802, a realização e utilização das informações obtidas no laboratório para o trabalho de conclusão de curso, intitulado “Associação de parâmetros genéticos e espermáticos: um estudo retrospectivo” do curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sagrado Coração/UNISAGRADO, orientado pela Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti.

Esta autorização está sendo concedida desde que as seguintes premissas sejam respeitadas: as informações serão utilizadas unicamente e exclusivamente para a execução do presente trabalho; o aluno se compromete a preservar as demais informações obtidas, garantindo sigilo e privacidade, assim como o nome deste laboratório.

De acordo,

Bauru, 18 de Setembro de 2020.

Aguinaldo Cesar Nardi
Diretor Clínico – Clínica Integra e Fertility Bauru

Vinicius Contrucci Dantas Segarra
Aluno responsável pelo trabalho –
UNISAGRADO

Rita Luiza Peruquetti
UNISAGRADO