

Trastornos genéticos en infertilidad masculina

Coco, Roberto

*Laboratorio de Genética y Reproducción de Fecunditas
Lavrea 790, Buenos Aires 1030, Argentina.
e-mail: robertococo@fecunditas.com.ar*

La infertilidad puede ser un mecanismo natural de selección para evitar el nacimiento de niños con trastornos.

La infertilidad masculina puede ser causada por factores genéticos que afectan la formación de espermatozoides o su función.

En aproximadamente 40% de las parejas infértiles, los hombres no tienen espermatozoides o tienen muy pocos, con movilidad y morfología alterada. Está bien reconocido que una proporción importante de varones infértiles con oligoastenoteratozoospermia (OAT) o azoospermia es de causa genética.

Actualmente con la disponibilidad de la tecnología reproductiva asistida y sobretodo con la inyección intracitoplasmática del espermatozoide dentro del óvulo (ICSI) que ofrece la posibilidad de convertir en padres genéticos a varones con unos pocos espermatozoides, es necesario aseverar o descartar el factor genético de la infertilidad con el propósito de ofrecer el asesoramiento genético pertinente.

Causas genéticas de la infertilidad masculina

Las causas genéticas de la infertilidad masculina pueden ser cromosómicas, génicas, poligénicas, mitocondriales y por imprinting genético. Los defectos cromosómicos son detectados por estudios citogenéticos en sangre, material de biopsia testicular o en espermatozoides, mientras que los defectos génicos se evidencian con métodos de biología molecular.

Investigando los genes relacionados con la infertilidad masculina en la base de datos del OMIM (Online Mendelian Inheritance In Man) aparecen en el listado 42 de ellos. Esos datos indican la complejidad de los genes intervinientes en la espermatogénesis humana. Existen por lo menos 25 afecciones génicas que se asocian con la infertilidad masculina (Tabla 1).

OMIM Home Search

Select Entries from OMIM --

Online Mendelian Inheritance in Man

25 entries found, searching for "genetic disease in male infertility"

www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM/

*313700	ANDROGEN RECEPTOR; AR
279000	YOUNG SYNDROME
#219700	CYSTIC FIBROSIS; CF
*201910	ADRENAL HYPERPLASIA, CONGENITAL, DUE TO 21-HYDROXYLASE DEFICIENCY
*152780	LUTEINIZING HORMONE, BETA POLYPEPTIDE; LHB
*107730	APOLIPOPROTEIN B; APOB
*602421	CYSTIC FIBROSIS TRANSMEMBRANE CONDUCTANCE REGULATOR; CFTR
#244400	KARTAGENER SYNDROME
#160900	DYSTROPHIA MYOTONICA 1
*264600	PSEUDOVAGINAL PERINEOSCROTAL HYPOSPADIAS; PPSH
*208900	ATAXIA-TELANGIECTASIA; AT
#264300	17-@BETA HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE III DEFICIENCY
*163950	NOONAN SYNDROME 1; NS1
*106180	ANGIOTENSIN I-CONVERTING ENZYME; ACE
#253300	SPINAL MUSCULAR ATROPHY I; SMA1
*164160	LEPTIN; LEP
#313200	SPINAL AND BULBAR MUSCULAR ATROPHY, X-LINKED 1; SMAX1
*312610	RETINITIS PIGMENTOSA 3; RP3
*601769	VITAMIN D RECEPTOR; VDR
#248250	HYPOMAGNESEMIA, PRIMARY
268040	RETINOHEPATOENDOCRINOLOGIC SYNDROME
*138850	GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE RECEPTOR; GNRHR
#136500	FRAGILE SITE 16q22; FRA16A
*600201	AGOUTI SIGNALING PROTEIN; ASIP
*600797	INSULIN RECEPTOR SUBSTRATE 2; IRS2

Tabla 1: Enfermedades genéticas en infertilidad masculina

Anomalías cromosómicas

Numerosas fuentes de estudio citogenético en varones infértiles documentan que entre un 10 y 15% tienen anomalías cromosómicas constitucionales (1), existiendo una clara relación entre la severidad del

espermograma y la proporción y tipos de anomalías cromosómicas, siendo mayor la frecuencia de alteraciones de los cromosomas sexuales en los varones con azoospermia y oligozoospermia severa, mientras que en los varones con oligozoospermia son los rearrreglos estructurales equilibrados (Tabla 2).

También se ha documentado que aproximadamente un 10% de los varones infértiles con cariotipo mitótico normal tienen anomalías en los cromosomas meióticos (2). La mayoría de las detecciones de la espermatogénesis se relacionan con alteraciones en el apareamiento o sinapsis de los cromosomas homólogos. Cualquier condición que interfiera con la formación del par sexual X-Y y la inactivación del cromosoma X son críticas para el desarrollo del proceso meiótico; además las regiones homólogas sin sinapsis favorecen la eliminación de espermatocitos con errores sinápticos. Más recientemente se ha documentado que el estudio del semen por hibridación "in situ" fluorescente (FISH) es útil para determinar el número de copias de determinados cromosomas presentes en los núcleos espermáticos decondensados, en un amplio rango de varones: normales, infértiles con o sin OAT, portadores de rearrreglos cromosómicos, añosos, expuestos a teratógenos potenciales, etc.

La estimación de espermatozoides anormales a partir del estudio de las aneuploidías más frecuentes (13, 18, 21, X e Y), nos permitió evidenciar que la frecuencia de aneuploidías en los varones con cariotipos y espermogramas normales fue $9.80 \pm 4.0\%$ (n=10), mientras que en los varones con OAT fue

$31.7 \pm 19.7\%$ (n=29). Nuevamente la proporción de espermatozoides anormales se correlacionó con la severidad de la OAT. Además en un estudio de FISH en semen de pacientes que accedieron a ICSI demostramos que el 60% de los pacientes con una frecuencia de aneuploidías inferior al 25% habían logrado el embarazo evolutivo, mientras que ninguno de los que tenían una frecuencia mayor a 25% lo habían logrado. Estos hallazgos nos permitieron inferir la importancia de la evaluación del riesgo genético reproductivo antes de acceder al procedimiento con el propósito de predecir las posibilidades de éxito del procedimiento con la disponibilidad del diagnóstico preimplantatorio (DGP) con fines preventivos (3). Los portadores de rearrreglos cromosómicos balanceados son los candidatos ideales para el DGP debido al riesgo genético aumentado que conllevan. La frecuencia de rearrreglos cromosómicos equilibrados en población de recién nacidos es 0,2%, en parejas infértiles 0,6%, en las que han fracasado más de 10 intentos de FIV 3,2%, en las abortadoras recurrentes 9,2%, en los varones que requirieron ICSI 3,1%, y en sus parejas una cifra similar, evidenciando tal vez que el factor masculino se pone más fácilmente de manifiesto con una pareja subfértil que con una fértil. El estudio de los patrones de segregación y análisis de aneuploidías en 6 varones portadores de rearrreglos nos permitió documentar un riesgo genético variable, desde 14% hasta el 80% de acuerdo con el reordenamiento, además del efecto variable sobre la disyunción de otros cromosomas no involu-

Anomalia Tipo	Azoospermia %	Oligozoospermia %	Normozoospermia %	Recién Nacidos ‰
XXY	11.4	0.4	0	1.2
XYY	0.1	0.2	0	0.9
XX	0.9	0	0	0
Inv(Y)	0.1	0	0.1	0.37
Dic(Y)	0.3	0	0	0
X/XY	0.1	0.2	0	0.07
T. XY/A	0.3	0	0	0.45
T. Balanceadas	0.6	1.7	0.4	1.65
F. Céntricas	0.3	0.9	0.1	1.72
Inversiones	0.3	0	0.1	0.22
Anillos	0.2	0	0	0.07
TOTAL	14.9	3.4	0.7	6.65

Tabla 2: Anomalías cromosómicas en varones infértiles.

crados en el rearreglo (Tabla 3). De los seis portadores, tres pacientes accedieron al DGP, uno con t(1;4), otro con t(1;19) y otro con t(13;14). Solamente en los dos últimos, 3 de 8 y 3 de 10 de los embriones biopsiados resultaron normales, mientras que ninguno de los 9 estudiados del primer caso resultaron normales. Por lo tanto, la proporción de embriones normales fue similar a lo hallado en los estudios efectuados en el semen de los portadores. Estos resultados, nos permiten afirmar la importancia de la evaluación del riesgo genético previo al DGP.

Microdeleciones AZF

Si bien es cierto que la introducción del término AZF (factor de la azoospermia) se infirió en base a hallazgos citogenéticos en el cromosoma Y deletado, en general se ponen en evidencia con técnicas de biología molecular. La información que la espermatogénesis está controlada por genes localizados en el cromosoma Y fue sugerida por Ronald Fisher en el año 1931. Posteriormente, Tiepolo & Zuffardi en 1976, con los resultados de los estudios cromosómicos en hombres infértiles, revelaron que 0.5% de ellos tenían deleciones del brazo largo del Y motivo por el cual propusieron la localización del factor de la azoospermia en el brazo largo del Yq11.22-23.

La incidencia de microdeleciones en varones infértiles varía entre 1 y 55%, dependiendo fundamentalmente de los criterios de inclusión de las diferentes fuentes de estudio, con un valor promedio de 8%. La evaluación cuidadosa permitió subdividir a la región AZF en tres: AZFa, AZFb y AZFc (ver esquema)(4).

En la mayoría de los pacientes la microdelección corresponde a AZFb y/o AZFc, mientras que una pequeña proporción a AZFa. Varios genes han sido identificados en la región AZF y están siendo estudiados para conocer su rol en la espermatogénesis.

Por supuesto que si estas microdeleciones son las responsables de los defectos de la espermatogénesis causando bajo recuento espermático, con el uso del ICSI son transmitidas a sus hijos varones quienes muy probablemente serán estériles. Nuevamente la mayor frecuencia de microdeleciones se encuentra en los varones con más bajo recuento de espermatozoides. El estudio de las microdeleciones AZF en 49 pacientes con OAT con recuento espermático menor a $5 \times 10^6/\text{ml}$ permitió a nuestro grupo identificar 7 pacientes con microdeleciones, correspondiendo un caso a las tres regiones AZF, otro caso a la región b y c, otro a la región b y cuatro casos a la región c. Si bien la relación genotipo-fenotipo seminal y/o testicular no está aún totalmente aclarada, la investigación de las microdeleciones AZF podría ser útil para predecir las posibilidades de recuperación de espermatozoides testiculares en los varones azoospermicos y sobretodo en los casos con microdeleciones involucrando las tres regiones a, b y c serviría para aseverar la inexistencia de espermatozoides debido a la ausencia congénita del epitelio germinal documentado en esos pacientes (Síndrome de células de Sertoli solo de tipo I) (5).

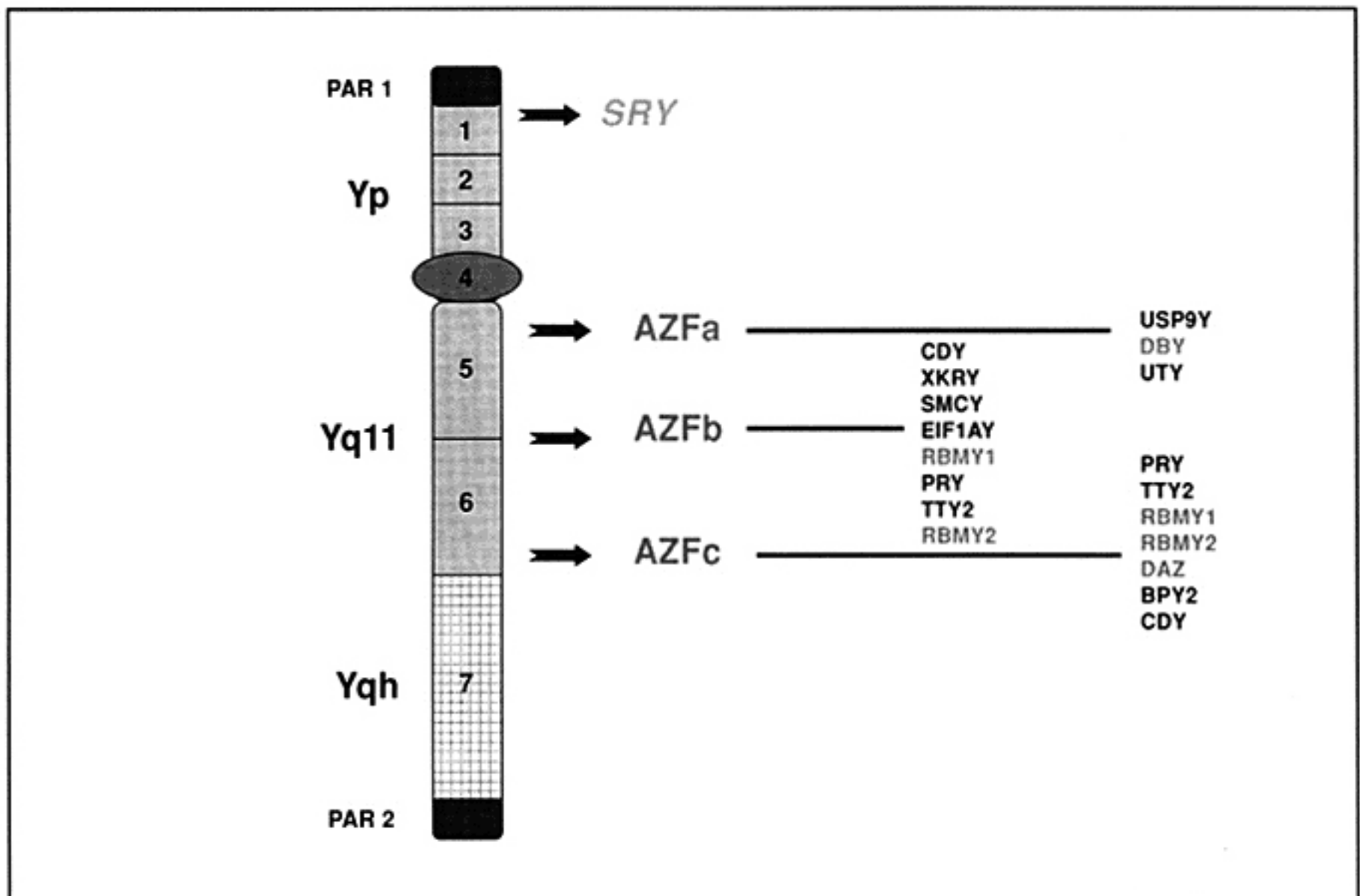
Ausencia congénita de vasos deferentes y fibrosis quística

Los hombres con ausencia congénita de vasos deferentes tienen azoospermia obstructiva y generalmente tienen una espermatogénesis normal. Por lo tanto, los espermatozoides pueden ser aspirados de epidídimo o testículo y ser usados en un ICSI para fecundar a los ovocitos. El 95% de los pacientes con fibrosis quística tienen ausencia congénita de deferentes.

La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva cuya incidencia es 1/2500 nacidos. General-

Translocación	% Segregación Anormal	% Aneuploidías				% Espermatozoides Normales
		13	18	21	XY	
t(2;7)	73.8	1.0	0.4	0.8	0.7	22.7
t(4;15)	57.8	1.4	0.4	0.8	2.6	36.0
t(1;19)	48.1	0.5	0.8	0.7	0.2	45.3
t(1;4)	80.2	21.2	15.2	31.0	28.2	1.13
t(13;14)	32.3	30.2	1.0	22.7	3.5	50.5
Inv(4)	13.9	1.0	0	0	0.6	80.0

Tabla N° 3: Análisis de segregación y aneuploidías en portadores de translocaciones equilibradas.



Esquema: microdelecciones AZF y los genes candidatos implicados en las tres regiones

mente los afectados fallecen antes de la edad reproductiva por problemas pulmonares y pancreáticos. Las mutaciones en el gen CFTR son responsables de la mala regulación en el transporte de cloruros entre las membranas celulares. La incidencia de hombres aparentemente normales pero infértiles con ausencia de deferentes es 1-2% y entre los varones con azoospermia obstructiva 6%. El 80% de ellos tienen mutaciones en el intrón 8, constituyendo la forma genital de la fibrosis quística. El 20% sin mutaciones se asocian con malformaciones del tracto urinario. Cuando se pretende realizar un ICSI en un varón con azoospermia obstructiva y ausencia de deferentes, es necesario evaluar las mutaciones del gen CFTR en su pareja, ya que la frecuencia de portadores de mutaciones es alta, uno cada 25 de la población general, y si ambos son portadores de algunas de las mutaciones CFTR tienen un riesgo del 25% e incluso del 50% para tener un afectado con fibrosis quística. (6).

Otras afecciones genéticas en infertilidad masculina

En la tabla 4 figuran las principales alteraciones genéticas relacionadas con infertilidad.

Distrofia miotónica:

Es una afección autosómica dominante cuya incidencia es 1/8000 y se caracteriza por una expansión del triplete CGT. El fenotipo es muy variado, desde la forma leve tal como el desarrollo de cataratas en vida adulta, o muy severa que a menudo es letal. La severidad de la afección está relacionada con el número de repeticiones del triplete. El 60 a 80% de los afectados tienen atrofia testicular con OAT. Como se trata de una mutación dinámica, si los pacientes acceden a un ICSI tienen un riesgo del 50% de transmitir una forma más severa de la afección por la mayor expansión del triplete. Por lo tanto, lo aconsejable sería informar sobre la posibilidad del diagnóstico preimplantatorio o prenatal convencional (7).

Síndrome de Kallmann:

Aunque la forma más frecuente es la ligada al X, se conocen las de transmisión autosómica recesiva y dominante. Los afectados se caracterizan por tener hipogonadismo hipogonadotrófico, anosmia y anormal secreción GnRH. Como la estimulación hormonal mejora la espermatogénesis habría que ofrecer el consejo genético de acuerdo con el tipo de transmisión (8).

Enfermedad	Frecuencia	Clínica	Herencia	Gen
Fibrosis Quística	1/1250	Pulmonar-Pancreática	AR	CFTR
Distrofia miotónica	1/8000	Debilidad muscular	AD	Expansión CGT
Kallmann	1/10000	Hipogonadismo-Anosmia	Lig-X	KAL-1
Cilios inmóviles -S. Young -S. Kartagener -S. Usher	1/25000	Rinitis-Sinusitis + Infertilidad Situs inversus Retinitis pigmentaria y Sordera	AR	14q32
Kennedy	1/50000	Debilidad muscular Ginecomastia	Lig-X	Expansión CAG
Deficiencia 5- α reductasa	?	Insuficiente masculinización de los genitales	AR	SRDS
Noonan	?	Fenotipo Turner- Cardiopatía derecha	AD	
Aaskorg-Scott	?	Fascias particulares-genitales desproporcionados	Lig-X	
Adrenomieloneuropatía	?	Insuficiencia adrenocortical	Lig-X	Xq28
Beckwith Wiedemann	1/13700	Crecimiento sobredimensionado macroglosia	AD Heterogéneo	Dup. 11p15 Imprinting Sin expresión 11p15mat
Bardet- Biedl	1/13500	Hipogonadismo-polidactilia postaxial	Heterogénea	11q13 3p13 15q22 2q31
Prader -Willi	1/10000-15000	Obesidad Hipogonadismo Retardo mental	Heterogénea	Del 15q11-13 Imprinting Sin expresión 15q11pat
Fra-X	1/700	Facie particular- Macroorquidismo- Retardo mental	Lig-X	Expansión CGG FMR1

Tabla 4: Enfermedades genéticas asociadas con infertilidad masculina

Síndrome de los cilios inmóviles:

Es un trastorno autosómico recesivo que se caracteriza por la afección crónica del tracto respiratorio con rinitis y sinusitis. Los varones afectados son infértiles porque tienen astenozoospermia. La asociación de azoospermia con enfermedad crónica sinopulmonar configura el síndrome sinusitis-infertilidad o **síndrome de Young**. Si se suma el situs inversus configura la condición llamada **Síndrome de Kartagener**. La asociación astenozoospermia con retinitis pigmentaria y sordera configura el **Síndrome de Usher**. El gen que codifica los cilios normales mapea en 14q32. Los varones afectados pueden procrear. Como la caracterización molecular de la afección

no está bien delineada, el examen genético es limitado. Como la incidencia de la afección es 1/25000, la frecuencia de portadores debe ser 1/80, lo que significa que el riesgo de un afectado, no caracterizado molecularmente, de transmitir la afección es 1/160 (9).

Síndrome de Kennedy:

También llamado atrofia muscular bulboespinal es una enfermedad neuromuscular que causa debilidad muscular y se asocia con atrofia testicular conduciendo a OAT. Es una alteración que se transmite con un patrón de herencia ligado al X y se debe a una expansión del triplete CAG que podría afectar al **gen receptor de andrógenos** (10).

Las mutaciones en los receptores de andrógenos interferirían con el desarrollo sexual dando lugar a un varón con genitales externos femeninos, cuadro conocido como **síndrome de feminización testicular o insensibilidad a los andrógenos**.

Síndrome hipospadias perineo-escrotal-pseudovaginal:

Por deficiencia autosómica recesiva de 5 alfa-reductasa. Los varones afectados son incapaces de sintetizar DHT a partir de testosterona, por lo tanto no tienen masculinizados los genitales externos hasta después de la pubertad y pueden consultar por infertilidad ya que después de la pubertad se virilizan completamente (11).

Síndrome de Noonan:

Pueden presentar oligo-azoospermia como resultado de la criptorquidia. El síndrome es de diagnóstico clínico dismorfológico siendo los principales signos la talla baja, el fenotipo turneriano y la enfermedad cardíaca. El patrón de herencia es autosómico dominante y se impone el asesoramiento genético si se lo diagnostica (12).

Síndrome de Aarskog-Scott:

También llamado síndrome faciодigitogenital de transmisión ligada al X; caracterizado por la peculiaridad de la cara (hipertelorismo ocular, narinas antevertidas y labio superior grueso), la particular desproporción en los tamaños del pene y escroto, asociado a los defectos del acrosoma espermático (13).

Adrenomieloneuropatía:

Enfermedad peroxisomal causada por una mutación en un gen localizado en el cromosoma X en q28, la cual es la causante de la deficiente beta oxidación de los ácidos grasos de cadena larga, con la consecuente acumulación de ácidos grasos en la corteza adrenal y cerebro. La mutación muestra una expresión fenotípica variable, desde la más severa que corresponde a la forma cerebral progresiva rápida que se presenta en la primera infancia y que conduce a la muerte, hasta las formas más moderadas de inicio más tardío y no progresivo y la enfermedad de Addison sin alteración neurológica.

La adrenomieloneuropatía de aparición tardía en la segunda o tercera década de la vida se caracteriza fundamentalmente por dificultad en el andar y los trastornos intestinales, vesicales y sensoriales, la insuficiencia adrenocortical y la testiculopatía (14).

Síndrome de Beckwith-Wiedemann:

Caracterizado por crecimiento pondoestatural sobredimensionado, macroglosia y criptorquidia. De herencia heterogénea: autosómica dominante, duplicación del segmento 11p15 o por ausencia de expresión del alelo materno por imprinting (15).

Síndrome de Bardet-Biedl:

Caracterizado por obesidad, polidactilia postaxial, hipogonadismo y retardo mental de etiología heterogénea (16).

Síndrome de Prader-Willi:

Caracterizado por la tríada: obesidad, hipogonadismo y retardo mental. Es una afección por imprinting que resulta por la ausencia de expresión del alelo paterno en la región 15q11-q13 (17).

Fragilidad del X:

Es el tipo más frecuente de retraso mental hereditario, siendo más frecuente y grave en varones. La frecuencia de portadores sanos es de 1/700 individuos. Los rasgos sobresalientes son: retraso mental con manifestación variable, cara alargada, prognatismo, orejas grandes, alargadas y prominentes y macroorquidismo. La afección se caracteriza a nivel molecular por la inactivación del gene FMR1 localizado en Xq27.3. Los varones portadores pueden transmitirla a sus hijas mujeres, quienes tendrán riesgo de transmitir el retardo mental al 50% de sus hijos varones.

Otras causas de infertilidad masculina son los defectos enzimáticos y energéticos, tales como:

a) Deficiencias enzimáticas en la biosíntesis de testosterona, de la hormona LH y la deficiencia en los receptores de LH (18-19) y los **b) Defectos energéticos mitocondriales:** las mitocondrias son las principales fuentes de producción de energía de las células a través de la fosforilación oxidativa. La síntesis de ATP ocurre por la acción de cinco enzimas que están codificadas en gran parte en el ADN mitocondrial siendo la transmisión la vía materna. Las enfermedades mitocondriales fundamentalmente afectan el sistema nervioso central y los músculos. Los defectos en la función respiratoria son los responsables de la motilidad reducida en los espermatozoides ya que el ATP es necesario para la propulsión de los mismos. Motilidad espermática reducida ha sido documentada en varios pacientes con encefalopatías mitocondriales causadas por mutaciones o deleciones en el ARN y ADN mitocondriales (20).

Recomendaciones:

No sólo se debe tener presente la historia personal del paciente sino también sus antecedentes familiares, haciendo énfasis en los parientes de primer y segundo grado en cuanto a antecedentes de esterilidad, abortos y malformaciones físicas asociadas o no a retardo mental. La información recogida podría sugerir un posible trastorno cromosómico, una enfermedad génica, poligénica, mitocondrial o por imprinting.

Un completo examen físico del paciente y su pareja es útil para establecer el diagnóstico clínico de enfermedad asociada con infertilidad. También permitiría revelar otras enfermedades hereditarias no identificadas previamente que podrían causar morbilidad o ser letales en los descendientes. Por lo tanto, los pacientes deberían ser informados antes de intentar comenzar los tratamientos de reproducción asistida.

Los estudios complementarios y los exámenes de laboratorio permitirían confirmar la sospecha clínica.

Habitualmente se deben realizar los siguientes estudios: 1°- La historia de los antecedentes personales y familiares, 2°- El examen físico completo, 3°- El espermograma y 4°- Los dosajes hormonales son suficientes para caracterizar a la mayoría de los pacientes en dos grandes grupos:

A- infértil asociado a otros trastornos físicos y/o mentales.

B- infértil aparentemente normal.

Los pacientes infértiles aparentemente normales pueden agruparse en:

A- Oligozoospermicos u oligoastenoteratozoospermicos (OAT).

B- Azoospermicos obstructivos y no obstructivos.

En los casos de infertilidad masculina por OAT o azoospermia no obstructiva, siempre deben realizarse los siguientes estudios:

1°- Cariotipo en sangre del paciente y el de su pareja.

2°- Cariotipo meiótico en caso de requerir la biopsia testicular.

3°- FISH en semen para detectar las aneuploidías más frecuentes o para determinados cromosomas involucrados en reordenamientos tales como translocaciones e inversiones, para estimar la producción de espermatozoides cromosómicamente normales.

4°- Microdeleciones AZFa, AZFb y AZFc en Yq₁₁ en sangre periférica.

En los hombres con ausencia congénita de vasos deferentes sin anomalías del tracto urogenital y en su pareja se debe descartar las mutaciones del gen CFTR. En la actualidad es posible identificar al 90% de los portadores de mutaciones del gen CFTR en

población caucásica estudiando entre 10 y 30 mutaciones.

Por último, es conveniente ofrecer otros estudios específicos en casos de enfermedades tales como los síndromes de Kennedy, Kallmann, Distrofia miotónica, cilios inmóviles, etc. no sólo con la finalidad de corroborar el diagnóstico, sino para ofrecer el asesoramiento genético al propositus y su familia concerniente al riesgo de transmisión y la posibilidad de los diagnósticos prenatales o preimplantatorios con fines preventivos.

Referencias:

- 1- Coco et al, 1986: Cytogenetics findings in 301 sterile and/or infertile men with abnormal spermograms. *Medicina* 46; 303
- 2- Egozcue et al, 2000: Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update* 6 (1): 93
- 3- Coco et al, 2000: Estimación del riesgo reproductivo en varones con semen anormal usando FISH para las aneuploidías más frecuentes. Abstract XLV Congreso de la Sociedad Argentina de Investigación clínica.
- 4- Vogt et al, 1997: Human Y chromosome azoospermia factors AZF mapped to different subregions in Yq11. *Hum. Mol. Genet.* 5; 933.
- 5- Foresta et al, 2001: Prognostic value of Y deletion analysis. *Hum Reprod* 16 (8); 1543
- 6- Patrizio et al, 1996: Congenital absence of the vas deferens: a mild form of cystic fibrosis. *Mol Med Today* 1; 24
- 7- Sermon et al, 1998: Fluorescent PCR and automated fragment analysis for the clinical application of preimplantation genetic diagnosis of myotonic dystrophy (Steinert's disease). *Mol Hum Reprod* 4; 791
- 8- Rugarli et al, 1993: Kallmann syndrome. From genetics to neurobiology. *J. Am. Med. Ass* 270; 2713
- 9- Afzelius, 1998: Inmotile cilia syndrome: past, present, and prospect for the future. *Thorax* 53; 894
- 10- Igarashi et al, 1992: Strong correlation between the number of CAG repeats in androgen receptor genes and the clinical onset features of spinal and bulbar atrophy. *Neurology* 42: 2300
- 11- Sinnecker et al, 1996: phenotypic classification of male pseudohermaphroditism due to steroid 5 alfa reductase II deficiency. *Am. J. Med. Gen.* 63: 223.

- 12- Elswawi et al, 1994: Genital tract function in men with Noonan syndrome. *J. Med. Genet.* 31;468
- 13- Meschede et al, 1996: sperm acrosome defects in a patient with Asrskog-Scott syndrome. *Am J Med Genet* 66;340
- 14- Mosser et al, 1993: Putative X-linked adrenoleukodystrophy genes shares unexpected homology with ABC transporters. *Nature* 361;726
- 15- Elliott & Maher, 1994: Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet* 31;560
- 16- Beales et al, 1999: New criteria for improved diagnosis of Bardet-Bield syndrome: results of a population survey. *J Med Genet* 36;437
- 17- Cassidy, 1997: Prader-Willi syndrome. *J Med Genet* 34;917
- 18- Weiss et al, 1992: Hypogonadism caused by a single aminoacid substitution in the subunit of uteinizing hormone. *N Engl J Med* 326;179
- 19- Latronico et al, 1999: Naturally occurring mutation of the luteinizing-hormone receptor: lessons learned about reproductive physiology and G protein-coupled receptors. *Am J Hum Genet* 65;949
- 20- Kao et al, 1998: Multiple deletions of mitochondrial DNA are associated with the decline of motility and fertility of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 4;657