

## Pronóstico reproductivo en el síndrome de Klinefelter

Alberto J. Solari, Roberta B. Sciriano

II Unidad Académica de Biología Celular, Facultad de Medicina, UBA (Paraguay 2155, C1121ABG)  
Ciudad de Buenos Aires, ) y CONICET  
ajsolari@mailretina.com.ar

### Resumen

El síndrome de Klinefelter es la anomalía cromosómica numérica más frecuente entre los varones (1 cada 650) y se estima que hay aproximadamente 50.000 casos en la población masculina argentina de todas las edades, que en su enorme mayoría no son diagnosticados. En el último quinquenio las posibilidades de estos pacientes para llegar a ser padres han variado sustancialmente. La demostración de focos de espermatogénesis con células germinales euploides en pacientes adultos (Sciurano et al., 2009) ha reducido significativamente la posibilidad de riesgos genéticos en el uso de gametas obtenidas de estos pacientes, ya sea de eyaculado o mediante la técnica de micro TESE. Mediante dichas gametas y el uso de ICSI, actualmente se han reportado 149 bebés sanos procreados por pacientes con el síndrome de Klinefelter, desterrando la noción de que son estériles. La criopreservación de material germinal, ya sea de material de biopsia testicular o de gametas, es hoy una indicación prevalente para estos pacientes. La dimensión económica y las proyecciones bioéticas del tratamiento de estos pacientes plantean problemas aún no resueltos. Sin embargo, el éxito reproductivo ha sido un considerable avance científico.

### Introducción

El síndrome descrito por Harry Klinefelter y colaboradores en 1942 (1) es una anomalía cromosómica ( $2N=47, XXY$ ), cuya etiología, descubierta por Jacobs y Strong (2), dejó establecida la dificultad para la recuperación integral de estos pacientes. El cuadro sintomatológico incluye aspectos de déficit cognitivo, ginecomastia, alta estatura, microrquidismo y especialmente infertilidad con azoospermia (3). Sin embargo, la mayoría de los individuos portadores de este síndrome transcurren su vida sin ser diagnosticados, como lo describen Abramsky et al.(4), dada la naturaleza sutil de la mayoría de sus síntomas. Es, en el

aspecto reproductivo, en donde se generan mayormente las causas de consulta médica de estos pacientes, debido a su infertilidad. Es, también, en los aspectos de la reproducción, donde se han producido novedades sustanciales en el curso de los años recientes (3; 5).

### El interrogante:

#### ¿Son las células germinales XXY capaces de producir gametas masculinas?

Durante casi medio siglo se ha debatido si las células germinales con cariotipo 47, XXY, eran capaces de diferenciarse en espermatozoides, primero; y luego, si estos espermatozoides contenían un conjunto cromosómico haploide normal. La idea prevaleciente era que las células espermatogénicas con tres cromosomas sexuales eran incapaces de formar gametas, y que si por excepción llegaran a formarlas, éstas serían anormales, portadoras de cromosomas de más o de menos y quizás también de otras anomalías genéticas que las volvían no aptas para la fertilización de un óvulo normal. Esta idea de la incapacidad intrínseca del epitelio seminífero en el Klinefelter para producir espermatozoides normales se ha mantenido hasta tiempos recientes, basándose en la supuesta frecuencia de espermatidas con defectos cromosómicos en el Klinefelter, según proponen Yamamoto et al.(6); ver la crítica a esta postura en Egozcue et al. (7). Los datos actuales (ver más adelante) no corroboran las hipótesis de Yamamoto et al.

Por su parte, una serie de estudios citogenéticos iban gradualmente cimentando la idea de que las células humanas con tres cromosomas sexuales, XXY, difícilmente podrían desarrollar una profase meiótica normal. En los varones normales, el par XY se comporta de un modo característico, formando una estructura llamativa de cromatina condensada, llamada "cuerpo XY" (revisión en 8), y en esa estructura se había descubierto una región de sinapsis, con el desarrollo de un único

complejo sinaptonémico, entre el brazo corto del X y el brazo corto del Y, descrito por Solari, en 1988 (9). Este "complejo" corresponde a la "región pseudoautosómica 1" de los cromosomas sexuales humanos. Todo este aparato difícilmente podría armarse en forma correcta si se agrega un tercer cromosoma sexual. Un ejemplo ha sido el examen de un varón con disomía del cromosoma Y presente en espermatoцитos; en este caso se demostró una alteración de la conducta normal, puesto que la configuración prevalente fue de sinapsis entre los dos Y (10).

Una vez que se introdujeron los métodos de análisis inmunofluorescente de la meiosis humana, se demostró que las regiones diferenciales del par XY humano normal están rodeadas de cromatina "silenciada", no transcripcional (revisión sobre silenciamiento, en 11). Adicionalmente, se demostró que en varones infértiles portadores de translocaciones autosómicas, que frecuentemente presentan asociación de los autosomas translocados con el cuerpo XY, también esas zonas autosómicas no sinapsadas se encuentran "silenciadas", contribuyendo a la impotencia funcional de los espermatoцитos (12).

Estos estudios sugerían que existía una dificultad significativa para que las células germinales XXY pudieran desarrollar una meiosis normal, pero no explicaban la presencia ocasional de espermatozoides en el eyaculado de los pacientes Klinefelter, que es de 8,4%, según Lanfranco et al, 2004 (13) y de células espermátogénicas en algunas biopsias testiculares. Además, la posibilidad de mosaicismos ocultos, XXY/XY complicaba la interpretación de estos casos (ver más adelante).

#### **Demostración de espermátogénesis focal a partir de células euploides en el S. de Klinefelter**

El cuadro reproductivo en el S. de Klinefelter se aclaró significativamente en 2009, cuando Sciu-rano et al (14) demostraron que las biopsias de 11 pacientes, analizadas con inmunofluorescencia y con microextendidos, mostraron en seis de esos casos la presencia de focos de espermátogénesis, y que todos los espermatoцитos analizados eran euploides, 46, XY). Este trabajo, que fue ampliamente confirmado por otros investigadores, sugirió que los focos de espermátogénesis presentes en los pacientes con Klinefelter sur-

gen a partir de clones espermátogoniales, que en sus numerosas divisiones mitóticas, son proclives a haber perdido el cromosoma X excedente (ver discusión en 14). Por consiguiente, la recuperación de espermatozoides en estos pacientes es muy probable que permita, mediante ICSI, la obtención de embriones normales. Es de notar también que estos focos de espermátogénesis euploide se desarrollan a pesar de un entorno con células de Sertoli anormales ( $2N=47,XXY$ ) (14).

#### **El problema del mosaicismo oculto (47,XXY/46, XY)**

Una duda que surge habitualmente en el estudio de estos pacientes es saber si los enfermos "puros", 47 XXY, lo son en realidad, en cada uno de los varios tejidos, y en especial en las células germinales. El cariotipado convencional, hecho con linfocitos de sangre periférica, generalmente es hecho con 20 metafases; sin embargo, en estos pacientes es recomendable un número superior de metafases, al menos de cincuenta, para excluir un mosaicismo menor al 10% con un nivel de confianza de 0,99, según García Quevedo et al. (15). Sin embargo, aún con recuentos mayores, no siempre se excluye la presencia de otras líneas celulares (15). El grado de mosaicismo es variable en distintos tejidos, siendo mayor en extendidos de mucosa bucal (21,9%), y sobre todo, en células de Sertoli en biopsias testiculares (42,3%) respecto de los linfocitos de sangre periférica (4,8%) (15). A partir de estos estudios se recomienda agregar un estudio más completo de los tejidos de estos pacientes, en especial los más simples y económicos, tal como los extendidos de mucosa bucal. También, sugieren que los tejidos con amplias tasas de proliferación (tasas mitóticas elevadas) son los más probables en presentar la pérdida del X excedente (las células de Sertoli se multiplican activamente en el desarrollo temprano).

#### **Resultados presentes de la terapia reproductiva en el S. de Klinefelter**

Contrariando a la concepción clásica de la completa esterilidad en este síndrome, 133 niños sanos habían sido engendrados por padres con S. de Klinefelter en 2011 (16), y más casos de recién nacidos normales se suman cada año (17).



Recientemente, Aksglaede y Juul (18), reportaron 149 nacimientos de bebés sanos hasta 2013. Embarazos y nacidos normales se han obtenido tanto con espermatozoides de eyaculado como de espermatozoides obtenidos con la técnica de extracción TESE o microTESE (sobre todo con ésta última) seguido por inyección intracitoplasmática de ovocitos (ICSI) (18). A pesar de este centenar y medio de nacimientos de bebés normales a partir de padres con este síndrome, lo cual evidencia que el síndrome no puede llamarse de "efectiva esterilidad", todavía hay ciertos hechos que mueven a considerar que estas terapias reproductivas se encuentran aún en una etapa experimental, y que cada caso requiere el ofrecimiento de consejo genético a los futuros progenitores. Estos interrogantes, todavía no resueltos, consisten en la observación (en diagnóstico preimplantatorio, PGD) de que los blastocistos provenientes de SK mostraron una tasa de anomalías de cromosomas sexuales (13,2%) y de anomalías autosómicas (15,6%) mayores que las del grupo control (19). Aunque es muy probable que tales blastocistos no se implanten o no completen su desarrollo luego de la transferencia, el posible riesgo ha sugerido que en todos los casos de terapia reproductiva de pacientes con Klinefelter, el diagnóstico preimplantatorio le sea propuesto a todas esas parejas.

#### **Edades del diagnóstico y de la terapia en el Síndrome de Klinefelter**

Los estudios histológicos del testículo han demostrado que las alteraciones del epitelio seminífero en este síndrome son continuas y progresivas con la edad, pero con una especial agravación durante la pubertad y la adolescencia, como lo han descripto Wikström et al. (20). La población seminífera de células germinales aparece ya disminuida en la época perinatal; las espermatogonias que permanecen hasta el comienzo de la pubertad, muestran una aparente incapacidad para ingresar en una meiosis normal y se tornan apoptóticas, al igual que algunos espermatocitos tempranos, llevando a una hialinización del tubo seminífero (esto incluye a las células de Sertoli, que también degeneran, aunque más lentamente que las células germinales). Como dicen Aksglaede y Juul, (18) la edad es el único indicador consistente para predecir la posibilidad de éxito

con la terapia (obtención de gametas funcionales). El volumen testicular está disminuido desde la niñez temprana, y en los adultos llega en promedio sólo a 3 ml, pero con un rango que puede llegar hasta 7 ml (18), comparado con un volumen medio de 22 ml para varones adultos normales. En un estudio argentino publicado por Pacenza et al. (21) también se encontró una mediana de volumen testicular reducida a 3,5 ml. Infortunadamente, los parámetros hormonales anormales son tardíos en este síndrome; cuando los valores de Inhibina B llegan casi a nulos, los tubos seminíferos se encuentran hialinizados, y las disminuciones de la AMH y el factor INSL3 son también poco útiles para pronosticar la posibilidad de recuperar espermatozoides. Sin embargo, aún en pacientes adultos, es posible encontrar focos aislados de espermatogénesis, en los cuales se pueden recuperar gametas funcionales (14). Por consiguiente, la técnica de micro TESE es la preferible para la búsqueda de gametas funcionales; y la criopreservación del material debe considerarse como un objetivo esencial para el pronóstico reproductivo mediato.

Si el diagnóstico fue afortunadamente hecho antes de la pubertad, el equipo andrológico a cargo de estos niños tiene la delicada prioridad de conseguir un eyaculado lo más precoz posible; tal como lo expresan racionalmente Aksglaede y Juul (18), la primera prioridad es tratar de conseguir espermatozoides frescos de eyaculado. La segunda vía es actualmente la obtención de las gametas mediante micro-TESE (ver Aspectos sociales y Éticos, más abajo)

#### **Implicancias sociales y éticas de la terapia reproductiva en el síndrome de Klinefelter**

Este síndrome es la aberración cromosómica más frecuente en la especie humana, afectando alrededor de 1 cada 650 varones (22). Se ha estimado que en Estados Unidos de Norteamérica existían 250.000 casos en 2009(3), y en la población mundial rondarían en cinco millones de afectados; en la República Argentina se pueden estimar en aproximadamente 50.000 afectados, la vasta mayoría no diagnosticados. No solamente esta dolencia es frecuente, sino que es sumamente subdiagnosticada. Se ha señalado que hay tres situaciones en las cuales es posible su diagnósti-

co: en los exámenes genéticos prenatales y perinatales; en la escuela primaria, por problemas de aprendizaje; y ya en la adultez, por la búsqueda de fertilidad. Frente a las características de este síndrome, cabe esperar que la medida más eficaz sería un tamizaje cromosómico de todos los recién nacidos; esta medida no sólo sería la más práctica, sino la que reportaría mejores posibilidades de éxito a la terapia reproductiva (véase edades de tratamiento).

Por otra parte, el andrólogo no puede obviar de plantearse que los pacientes que le llegan son solamente una mínima porción del total, aquéllos pertenecientes a familias suficientemente pudientes como para encarar exámenes diagnósticos costosos y sobre todo posibilidades de terapia con elevados costos. Tal como lo dicen Aksglaede y Juul (18), la criopreservación de células madre espermatogoniales (espermatogonias de núcleo oscuro) y de tejido espermatogénico de biopsia, puede ser un protocolo muy interesante para la investigación científica, pero está aún lejos de ser una posibilidad de tratamiento estándar para adolescentes con este síndrome. Por otro lado, la vastedad de recursos económicos y profesionales necesarios para estandarizar la terapia reproductiva y hacerla accesible a todos los pacientes, se contraponen con otras necesidades de nuestras actuales sociedades.

La obtención del material para terapia (eyacu-

lado y biopsias) plantea problemas bioéticos complejos. Dada la conveniencia de obtener los materiales a la edad más juvenil posible, siendo actualmente preferible la pubertad media, es necesaria la intervención de psicólogos y pediatras, múltiples conversaciones con el niño afectado y con sus padres, y finalmente el consentimiento informado de todos.

### **Conclusiones: un éxito científico y una terapia para pocos**

Indudablemente, el pronóstico reproductivo de los varones con S. de Klinefelter ha cambiado radicalmente en la última década. La tasa de éxito en la recuperación de espermatozoides con micro TESE puede alcanzar el 57% en adultos (18). Estas gametas tienen buenas probabilidades de ser normales (haploides) y efectivas para ciclos de fertilización in vitro. Finalmente, la existencia de un centenar y medio de bebés sanos nacidos de padres con este síndrome ha significado un triunfo científico significativo. Sin embargo, los enormes costos de recursos humanos y económicos necesarios para resolver cada caso en particular, como se señaló más arriba, no pueden ser ignorados: el pronóstico reproductivo para millones de pacientes y su tratamiento integral es, aún, incierto.

### **Referencias**

1. Klinefelter, HF, Reifenstein, EC, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without Leydigism, increased excretion of follicle stimulating hormone. *J Clin Endocrinol* 1942; 2:615-627.
2. Jacobs PA, Strong JA. A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959; 183:302-303.
3. Paduch DA, Bolyakov A, Cohen P, Travis A. Reproduction in men with Klinefelter syndrome: the past, the present and the future. *Semin Reprod Med.* 2009 Mar;27(2):137-48.
4. Abramsky, L, Hall, S, Levitan J, Marteau TM. What parents are told after prenatal diagnosis of a sex chromosome abnormality interview and questionnaire study. *Brit. Med. J.* 2001; 322:463-466.
5. Rives N, Milazzo JP, Perdrix A, Castanet M, Joly-Helas G, Sibert L, Bironneau A, Way A, Macé B. The feasibility of fertility preservation in adolescents with Klinefelter syndrome. *Hum Reprod.* 2013; 28:1468-1479.
6. Yamamoto Y, Sofikitis N, Mio Y, Loutradis D, Kaponis A, Miyagawa I. Morphometric and cytogenetic characteristics of testicular germ cells and Sertoli cell secretory function in men with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2007; 4:886-96.
7. Egozcue, J, Blanco J, Vidal F. Meiosis and Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2002; 17:3006-7.
8. Solari AJ. The behavior of the XY pair in mammals. *Int. Rev. Cytol* 1974; 38: 273-317.
9. Solari, AJ Synaptic behavior and recombination nodules in the human XY pair. *Genetica*, 1988; 30:149-158.
10. Solari, AJ, Rey Valzacchi G. The prevalence of a YY synaptonemal complex over XY synapsis in



a man with exclusive XYY spermatocytes. Chromosome Res 1997; 5:467-474.

11. Turner JM. Meiotic sex chromosome inactivation. Development 2007; 134:1823-31.

12. Sciarano, RB, Rahn MI, Rey Valzacchi G, Coco R, Solari AJ. The role of asynapsis in human spermatocyte failure. Int J Androl 2012; 35:541-9.

13. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. Lancet 2004; 364 273-283.

14. Sciarano RB, Luna Hisano CV, Rahn MI, Brugo Olmedo S, Rey Valzacchi G, Coco R, Solari AJ. Focal spermatogenesis originates in euploid germ cells in classical Klinefelter patients. Hum Reprod 2009; 24: 2353-60.

15. García-Quevedo L, Blanco J, Sarrate Z, Catalá V, Bassas L, Vidal F. Hidden mosaicism in patients with Klinefelter's syndrome: implications for genetic reproductive counselling. Hum Reprod 2011; 26:3486-3493.

16. Kliesch S, Zitzman M, Behre HM. Fertility in patients with Klinefelter syndrome. Urologe A 2011; 50:26-32.

17. Greco E, Scarselli F, Minasi MG, Casciani V, Zavaglia D, Dente D, Tesarik J, Franco G. Birth

of 16 healthy children after ICSI in cases of non-mosaic Klinefelter syndrome. Hum Reprod 2013; 28: 1155-60.

18. Aksglaede L, Juul A. Testicular function and fertility in men with Klinefelter syndrome: a review. Eur J Endocrinol 2013; 168: R67-76.

19. Staessen C, Tournaye H, Van Asche E, Michiels A, Van Landuyt L, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. PGD in 47, XXY Klinefelter's syndrome patients. Hum reprod Update 2003; 4: 319-30.

20. Wikström AM, Raivio T, Hadziselimovic F, Wikström S, Tuuri T, Dunkel L. Klinefelter syndrome in adolescence: onset of puberty is associated with accelerated germ cell depletion. J clin Endocrinol Metab 2004; 89:2263-70

21. Pacenza N, Pasqualini T, Gottlieb S, Knoblovits P, Constanzo PR, Stewart Usher J, Rey RA, Martinez MP, Aszpis S. Clinical presentation of Klinefelter's syndrome :Differences according to age. Int J Endocrinol 2012; 2012, 324835.

22. Bojesen A, Juul S, Gravholt CH. Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: a national registry study. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:622-6.

**L.E.R.**

**Laboratorio de Estudios en Reproducción**

Director: Dr. Juan C. Calamera

**MÉTODOS ESPECIALIZADOS APLICADOS AL ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

- LABORATORIO ANDROLÓGICO
- ESPERMOGRAMA COMPUTARIZADO
- PRUEBAS FUNCIONALES
- ESTUDIO ELECTROMICROSCÓPICO
- LABORATORIO GINECOLÓGICO
- LAB. CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO
- ESTUDIOS HORMONALES
- PRUEBAS FUNCIONALES

**Av. Córdoba 2077 - 1º E (1120) Buenos Aires**

**Tel.: 4961-7848 4962-8481 Fax: 4962-3581**