

Los varones portadores de una translocación cromosómica presentan espermogramas más patológicos que los varones normales XY

Males carrying a chromosomal translocation present more pathological spermograms than normal males XY

Salma Kaddouri, Raquel Blanes, M^oCintia Concepción, Stephany Hess, Jonay González, Rebeca Vaca, Tomás López, Rubí N Rodríguez, Delia R Báez.

Complejo Hospital Universitario de Canarias (CHUC).

Master Universitario de Reproducción Humana Título Propio (MURHTP), ULL.

RESUMEN

Introducción: A pesar de los avances en la reproducción asistida sigue habiendo pacientes infértiles con problemas para lograr un niño sano en casa. De entre todas las causas de infertilidad, las alteraciones cromosómicas, y en particular las translocaciones afectan al 0,2% de la población humana.

Objetivos: Valorar las repercusiones sobre la calidad seminal del hecho de ser portador de una translocación cromosómica y comparar con un grupo control de varones infértiles con cariotipo normal.

Material y métodos: Estudio retrospectivo sobre una población de 973 varones con cariotipo realizado entre enero de 2008 y diciembre de 2016 en la Unidad de Reproducción Humana del CHUC. De ellos 19 varones fueron portadores de translocaciones y se tomó un grupo de 93 pacientes 46XY como grupo control.

Resultados: Se encontraron diferencias significativas en: edad, diagnóstico del seminograma, volumen seminal y concentración de espermatozoides en fresco.

Discusión: El diagnóstico de patología seminal como la Oligozoospermia o Azoospermia hace necesario indicar un cariotipo, realización de FISH en espermatozoides y en caso de alteración realización de un consejo genético y DGP.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2018; 35; © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Palabras Clave: Translocación cromosómica, espermograma, azoospermico, oligozoospermico.

Aceptado: Septiembre 2018

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

SUMMARY

Introduction: Beside the advances in assisted reproduction, there are infertile patients with problems to have a healthy baby at home. One of the causes of infertility is the chromosomal alterations, and in particular are the chromosomal translocations that affects at 0.2% of human population.

Objectives: To value the repercussions on the seminal quality the fact of having a chromosomal translocation compared with a control group of infertile men with normal karyotype.

Material and Methods: Retrospective study of a population of 973 male's karyotype between January 2008 and December 2016 at the Unit of Human Reproduction of the CHUC. 19 of them had a chromosomal translocation and a group of 93 was taken as a control group 46XY.

Results: Differences were founded on: age, semiformal diagnostic, seminal volume and sperm concentration in fresh.

Discussion: The diagnosis of seminal pathology as Oligozoospermia or Azoospermia makes necessary to indicate a karyotype, a FISH of spermatozoa and if it is pathologic, a genetic counselling and PGD.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2018; 35; © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Key words: Chromosomal translocation, spermiogram, azoospermic, oligozoospermic.

INTRODUCCIÓN

A pesar de los avances en los tratamientos de fecundación *in Vitro* (FIV), aún hay parejas incapaces de lograr una implantación con éxito (1). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 15 % de las parejas en edad reproductiva presentan problemas de infertilidad (2).

Trastornos tales como la infertilidad, los embarazos con anomalías clínicas, las pérdidas gestacionales y el nacimiento de descendientes con discapacidad se encuentran entre las múltiples causas producidas por aberraciones cromosómicas. Estas alteraciones representan, aproximadamente, el 50 % de los fracasos en reproducción humana (3). También se sabe que el 50 % de los abortos espontáneos del primer trimestre son causados por aberraciones cromosómicas, así como el 20 % de los que ocurren en el segundo trimestre (4).

Cuando las aberraciones cromosómicas son generadas por un reordenamiento de un fragmento de cromosoma hacia otro, se denominan reubicaciones estructurales, entre las que se incluyen las translocaciones. Hay dos tipos de translocaciones: recíprocas y robertsonianas.

Las translocaciones recíprocas (TR) son los reordenamientos estructurales más comunes en humanos, con una prevalencia de 1 de 500 a 1 de 625 nacidos en la población general (5). Dichas translocaciones pueden originarse por un intercambio recíproco entre dos cromosomas no homólogos (6), siendo heredadas de uno de los progenitores o producida de *novo* (7).

Las translocaciones robertsonianas (TRO) pueden formarse de *novo* (puede ocurrir en el 50 % de los casos) o heredarse de un progenitor (8, 9). La prevalencia de las translocacio-

nes robertsonianas en la población general es de 1,2 por 1000 personas, 1,8 % en parejas con abortos recurrentes y 2-3 % de hombres infértiles (10,11). Las translocaciones robertsonianas son el resultado de la fusión de dos cromosomas acrocéntricos, que son los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22. Cuando se produce esta fusión, se pierden los extremos y los dos cromosomas quedan unidos dando lugar a un cromosoma metacéntrico o submetacéntrico (12).

Las translocaciones afectarán o no dependiendo del patrón de segregación en la meiosis. Tanto si la translocación es robertsoniana como si es recíproca, la única modalidad de segregación que nos proporcionará gametos normales o equilibrados es la segregación alternante.

Se sabe que los hombres con TRO balanceadas, aunque sean fenotípicamente normales presentan problemas de fertilidad produciendo un aumento en el número de espermatozoides con carga genética desequilibrada que oscila entre 3,4 % y 40 % y resultando en infertilidad, oligozoospermia, azoospermia, oligoastenozoospermia, abortos recurrentes, descendencia cromosómicamente desequilibrada (13-15).

Por otro lado, los hombres portadores de TR balanceadas presentan una frecuencia de espermatozoides desequilibrados entre el 18,6 % y el 80,7 % (16).

Es el objetivo de este estudio valorar las posibles repercusiones con respecto a la calidad seminal cuando el varón es el portador de una translocación cromosómica con respecto a un grupo control de pacientes infértiles pero con cariotipo normal 46XY en el Complejo Hospital Universitario de Canarias. La finalidad es sentar las bases de actuación en una Unidad de Reproducción Humana cuando se trata de parejas donde el varón tiene un seminograma patológico y cuando se le diagnostica una translocación cromosómica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo observacional donde se recogió el cariotipo de 973 pacientes varones que acudieron al Laboratorio de fecundación *in Vitro* (FIV) del Hospital Universitario de Canarias (Complejo Hospitalario Universitario de Canarias-CHUC de Tenerife), en el período comprendido entre enero de 2008 y diciembre de 2016.

En este estudio se diagnosticaron un total de 19 varones como portadores de translocaciones, tanto recíprocas como robertsonianas (grupo patológico) y se escogió al azar como grupo control un total de 93 pacientes con cariotipo 46XY. Se excluyeron del grupo control los ciclos en los que no se tenía el cariotipo de la pareja y aquellos casos en que hubiera cualquier otro tipo de alteración genética que no fuera la translocación.

Las variables recogidas fueron: Edad del varón, diagnóstico del seminograma y características seminales (volumen en fresco, concentración en fresco, movilidad espermática progresiva (a+b) en fresco, concentración de recuperación de espermatozoides móviles (REM) y movilidad espermática progresiva (a+b) en REM).

Para el diagnóstico del seminograma las muestras fueron evaluadas de acuerdo con las recomendaciones y estándares de la Organización Mundial de la Salud (OMS 2010) (2).

Normozoospermia: concentración ≥ 15 millones/ ml y ≥ 32 % móviles progresivos o también más de 39 millones de concentración total y 40 % de móviles progresivos.

Oligozoospermia: concentración < 15 millones / ml

Astenozoospermia: móviles progresivos $< 32\%$.

Oligoastenozoospermia: concentración < 15 millones/ ml y < 32 % móviles progresivos.

Oligozoospermia severa: concentración < 5 millones/ ml.

Criptozoospermia: Ausencia de espermatozoides en la muestra en fresco, pero tras la centrifugación se recuperan espermatozoides.

Azoospermia: Hay una ausencia total de espermatozoides tanto de la muestra en fresco como en el pellet tras la centrifugación.

El análisis estadístico se realizó usando el paquete estadístico SPSS versión 21. Los datos fueron comparados mediante el análisis de diferencia de medias para muestras independientes en los casos en los que eran numéricos y mediante Tablas de contingencias con chi-cuadrado, para los datos categóricos. El nivel de significación fue $P < 0,05$.

RESULTADOS

Al analizar la edad de los varones obtuvimos para el grupo control y patológico $37,86 \pm 5,62$ y $40,26 \pm 4,18$ respectivamente ($t_{57,590} = -3,169$; $p = 0,02$), por lo que fue significativamente mayor la edad del grupo de varones patológicos.

En nuestra población infértil, de un total de 3246 cariotipos analizados, 973 correspondieron a varones, y 19/973 (1,9 %) de varones presentaron una translocación o bien recíproca o bien robertsoniana. Se hallaron 11/19 (57,9 %) varones portadores de translocaciones recíprocas y 8/19 (42,1 %) portadores de translocaciones robertsonianas (Tabla 1).

TABLA 1

Descripción de la muestra de varones portadores de translocaciones

Translocaciones en varones
46,XY,t(7;9)
45,XY,rob(13;14)
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)
46,XY,t(14;21)(q12;q21)
46,XY,t(1;16)(q22;p13.2)
46,XY,t(3;8)(p21;p23)
46,XY,t(1;9)(q12;q12)
46,XY,der(21)t(Y;21)(q12;p11.1)
46,XY,t(X;6)(p22.3;p21.2)
46,XY,t(1;6)(q32;p23)
46,XY,t(5;11)(p10;p10)
46,XY,t(7;9)(p14;q34)
46,XY,t(4;12)(q28;q23)
46,XY,t(4;7)(p15;p15)
45,XY,rob(15;22)(q10;q10)

Se realizaron un total de 375 ciclos en el total de los pacientes de los dos grupos estudiados y de ellos, el porcentaje de los que recurrieron a semen de donante tanto del grupo control como del grupo patológico fue 26,7 % y 73,3 % respectivamente.

Al realizar la comparación del seminograma de los ciclos

de los dos grupos estudiados, observamos que en el grupo de varones normales 46 XY hay un 63,2 % de normozoospermicos, un 10,9 % de oligozoospermicos, un 6,8 % de astenozoospermicos, un 13,5 % de oligoastenozoospermicos, un 2,3 % de azoospermicos, un 0,4 % de oligozoospermicos severos y un 3,0 % de criptoospermicos. Mientras que en los varones portadores de alguna translocación, hallamos un 40,4 % de normozoospermicos, 12,8 % de oligozoospermicos, un 6,4 % de oligoastenozoospermicos, un 0,0 % de oligozoospermicos severos, un 0,0 % de criptoospermicos y un 40,4 % de azoospermicos. Existe diferencia significativa entre ambos grupos ($\chi^2_1=8.582$; $p=0,003$) cuando el varón presenta una translocación (Fig.1).

Examinando los valores seminales, encontramos diferencias significativas en el volumen seminal entre los grupos ($t_{292}=-6,152$; $p=0,000$) con una media en el grupo control de ($M=2,95 \pm 1,51$) y en el grupo patológico de ($M=4,64 \pm 1,67$). Los pacientes con translocaciones presentan mayor volumen seminal. También encontramos diferencias significativas entre el grupo control y el grupo patológico en la concentración en fresco ($t_{65,04}=3,191$; $p=0,002$) con una media de ($M=37,69 \pm 37,36$) y ($M=23,49 \pm 22,75$) respectivamente. La concentración por ml en fresco es menor en los pacientes patológicos (Tabla 2).

No encontramos diferencias significativas en la movilidad (a+b) en fresco ($t_{292}=0,803$; $p=0,423$) con una media en el

grupo control de ($M=44,8 \pm 17,96$) y en el grupo patológico de ($M=42,28 \pm 16,60$). Sí obtenemos significación en la movilidad (a+b) REM ($t_{292}=-2,589$; $p=0,010$) con una media en el grupo control de ($M=70,86 \pm 20,57$) y en el grupo patológico de ($M=80,25 \pm 18,94$). Tampoco encontramos diferencias significativas en la concentración en REM ($t_{292}=0,314$; $p=0,754$) con una media en el grupo control de ($M=30,35 \pm 30,22$) y en el grupo patológico de ($M=28,67 \pm 28,69$), siendo ligeramente menor en el grupo patológico.

DISCUSIÓN

La prevalencia de alteraciones cromosómicas es mayor en varones infértiles, de hecho, la probabilidad de encontrar un cariotipo alterado es inversamente proporcional al recuento espermático. Los portadores de una translocación cromosómica tiene un riesgo incrementado de tener un fallo reproductivo o descendencia afecta por el hecho de producir gametos desbalanceados

En la población general, se sabe según la bibliografía ya publicada (11, 20) que el porcentaje de translocaciones reciprocas está alrededor del 0,2 % mientras que las translocaciones robertsonianas está en torno al 0,12 %. También es sabido que este porcentaje está incrementado en parejas infértiles (0,6 %) en comparación con la población

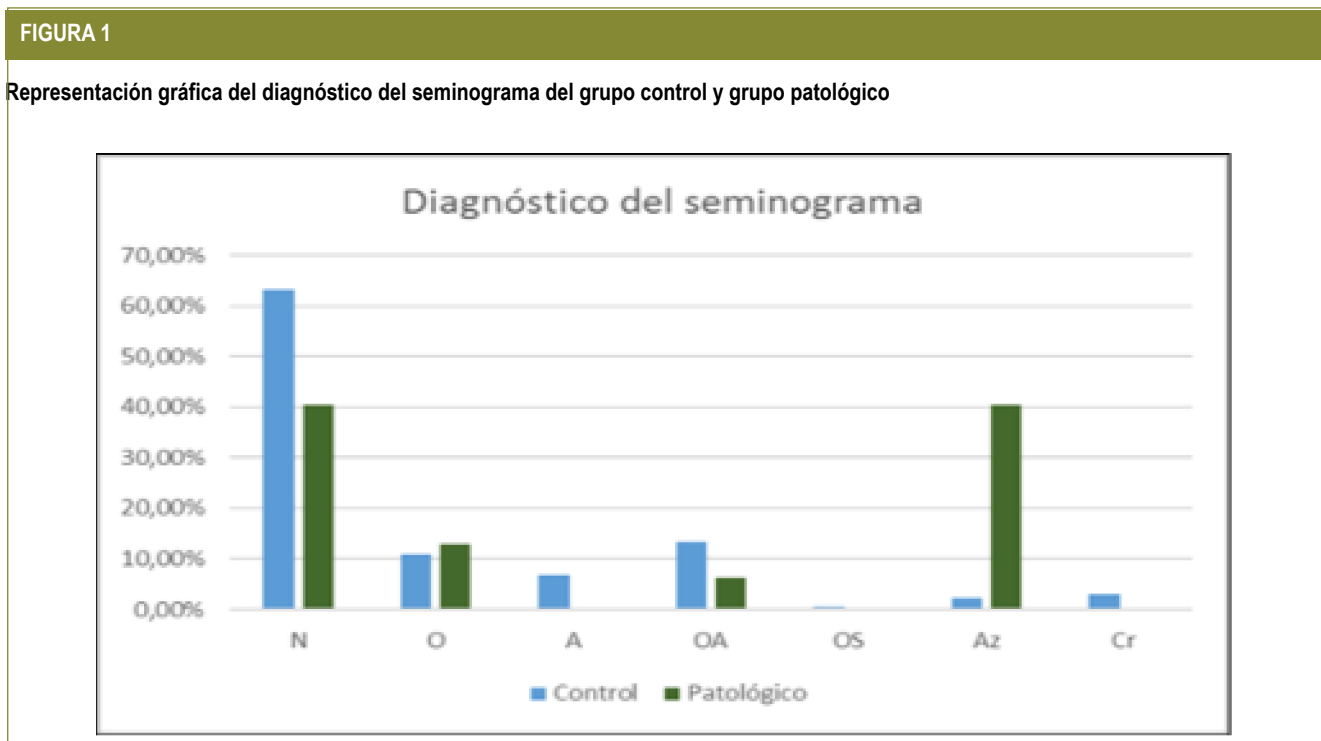


TABLA 2

Representación de la N del grupo control (0) y el grupo patológico (1), media y desviación típica del seminograma (N=36 ciclos de los 19 pacientes patológicos, N=258 ciclos de los 93 pacientes del grupo control).

	Grupo	N	Media	Desviación típica.
V.semen(ml)	0	258	2,95	1,51
	1	36	4,63	1,67
Cc.fresco(mill/ml)	0	258	37,69	37,36
	1	36	23,49	22,75
Mov. a+b_fresco	0	258	44,82	17,96
	1	36	42,28	16,60
CC. REM (mill/ml)	0	258	30,35	30,22
	1	36	28,67	28,69
Movía+b_REM	0	258	70,86	20,57
	1	36	80,25	18,94

general (17). Y es mayor esta frecuencia en individuos con fallos de implantación (1,4 %), y sobre todo en individuos de parejas con abortos de repetición (4,1 %) (1). Estudios de series grandes como el de Gekas J. (18) obtienen de entre una población de pacientes infértiles una frecuencia de 1,23 % de varones con TR y 0,82 % con TRO. Acorde con estas publicaciones en nuestro estudio hemos encontrado que, valorando una población de pacientes infértiles, el índice de translocación que hemos encontrado, es 1,9 % en varones portadores de translocación cromosómica, 1,13 % de TR y 0,82 % de TRO, por lo que podemos decir que nuestra población de varones infértiles se ajusta a las frecuencias esperadas de portadores de una translocación.

Dado que conocemos la existencia del fenómeno de apoptosis, proceso selectivo que excluye la proporción de células germinales desequilibradas durante la espermatogénesis y que altera los parámetros espermáticos de estos varones infértiles, sabemos que aquellos pacientes que presentan translocaciones, teóricamente deben de tener una mayor incidencia de oligozoospermia y azoospermia debido a este fenómeno (19–21). Siguiendo este principio, comprobamos en el presente estudio que efectivamente la población de varones portadores de translocación tiene un recuento espermático significativamente menor que el grupo control, destacando el diagnóstico de azoospermia con más prevalencia incluso que el de oligozoospermia. Asimismo, cuando estudiamos la frecuencia con que se muestra una patología espermática debido a una alteración genética, observamos que hay una mayor incidencia de varones con azoospermia y oligozoospermia severa (según Guía 22 de la SEF), lo que nos lleva a poder afirmar que en los casos en que se trata a parejas donde el varón tiene alguna de estas

patologías espermáticas, está indicado realizar el estudio del cariotipo como prueba inicial del estudio de la pareja para descartar posibles alteraciones estructurales como las translocaciones recíprocas y robertsonianas.

La condición de aneuploide/euploide de los gametos obtenidos tras la meiosis depende de los tipos de segregación meiótica (alternante, adyacente I, adyacente II, 3:0, 3:1 y 4:0) predominante en cada paciente portador de translocación y de la influencia del fenómeno del efecto inter cromosómico (ICE). En trabajos como el desarrollado por Benet et al. (16), indican un porcentaje de gametos aneuploides en pacientes varones portadores de translocaciones recíprocas que oscila entre 18,6 % y 80,7 % mientras que el porcentaje de translocaciones robertsonianas oscila entre 3,4 % y 40% (14). Puesto que a priori en pacientes portadores de translocaciones no sabemos qué tipo de segregación va ser dominante, se recomienda en estos casos realizar un FISH de espermatozoides para determinar cuál sería la probabilidad de obtener embriones sanos y posteriormente poder proporcionarle un consejo genético a la pareja (22).

Analizando los resultados de nuestros análisis del semen podemos decir que la detección de un reordenamiento cromosómico en el cariotipo de un paciente tiene una correlación negativa sobre la concentración de los espermatozoides (23,24), ya que, los pacientes portadores de alguna translocación presentan una disminución de la concentración de espermatozoides en fresco en comparación con los sujetos del control, hecho también observado por otros autores (19).

La concentración en fresco presenta mayor rigor diagnóstico que la concentración en REM debido a que esta nos permite un catálogo la patología seminal mientras que, la

concentración de la REM es variable en función del volumen de resuspensión usado y la técnica de capacitación utilizada, y es por ello por lo que en nuestro estudio nos hemos centrado en los parámetros seminales en fresco.

En los estudios publicados de aberraciones cromosómicas en varones como el realizado por Van Assche et al. (21), se correlacionan estas con un descenso en la movilidad espermática, hecho que no se confirma en nuestro estudio, lo que indica que sería interesante ampliar el número de pacientes estudiados con esta patología para confirmar este hecho.

Cuando un varón tiene una baja concentración espermática o una morfología anómala algo aumentada y presenta un cariotipo normal se sabe que presenta un riesgo aumentado de tener aneuploidías en los espermatozoides, especialmente en los cromosomas sexuales. Sin embargo este mismo hecho no se confirma cuando lo que presenta es una movilidad disminuida (26). Por ello, los resultados obtenidos en el presente estudio respecto a la movilidad espermática no son los más determinantes a la hora de establecer pautas de actuación clínica.

Según el manual de Andrología de la Sociedad Española de Fertilidad (25, 27), el estudio de la esterilidad masculina debe incluir sistemáticamente el cariotipo y el estudio de aneuploidías en espermatozoides mediante la técnica de FISH, por lo que, se recomienda que para aquellos pacientes que presenten una baja movilidad o concentración de espermatozoides se le realicen dichas pruebas diagnósticas para hacer una estimación del porcentaje de espermatozoides afectados y determinar que probabilidades tiene de tener una alteración cromosómica la descendencia y por tanto en estos casos recomendar un Diagnóstico genético preimplantacional.

En conclusión, cuando en el estudio de la pareja estéril se diagnostica un espermograma como patológico con una concentración de espermatozoides reducida, azoospermia, oligozoospermia severa o criptozoospermia, debe realizarse en primer lugar un cariotipo para descartar posibles alteraciones cromosómicas. También está indicado la realización de un FISH de espermatozoides a aquellos pacientes varones que presenten oligozoospermia severa, en parejas con esterilidad idiopática, en fallos de implantación y a varones de parejas con abortos de repetición, ya que, estos podrían ser portadores de translocaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Stern C, Pertile M, Norris H, Hale L, Baker HWG. Chromosome translocations in couples with in-vitro fertilization implantation failure. *Hum Reprod.* 1999; 14(8):2097–101.
2. World Health Organization. WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple [Internet]. Available

from: https://books.google.es/books?id=9HUcx_4ViQ9kC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

3. Oliver-Bonet M, Navarro J, Carrera M, Egozcue J, Benet J. Aneuploid and unbalanced sperm in two translocation carriers: evaluation of the genetic risk. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 2002; 8(10):958–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12356948>
4. Queißer-Luft A, Stolz G, Wiesel A, Schlaefer K, Spranger J. Malformations in newborn: Results based on 30940 infants and fetuses from the Mainz congenital birth defect monitoring system (1990–1998). *Arch Gynecol Obstet.* 2002; 266(3):163–7.
5. Ogilvie CM, Scriven PN. Meiotic outcomes in reciprocal translocation carriers ascertained in 3-day human embryos. *Eur J Hum Genet.* 2002; 10(12):801–6.
6. César Benito Jiménez FJEN. Genética: Conceptos esenciales. In: Médica Panamericana, editor. *Genética: Conceptos esenciales.* 1o Edición. 2013. p. 594.
7. Tucker JD. Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: A review of the major considerations for human biological dosimetry. *Mutat Res - Rev Mutat Res.* 2008; 659(3):211–20.
8. Kim S R, Shaffer L G. Robertsonian Translocations: Mechanisms of Formation, Aneuploidy, and Uniparental Disomy and Diagnostic Considerations. *Genetic Testing. Vol.6. N.3. Original Contributions.* 2002; 6(3).
9. Shaffer LG, Jackson-Cook CK, Stasiowski BA, Spence JE, Brown JA. Parental origin determination in thirty de novo Robertsonian translocations. *Am J Med Genet.* 1992; 43(6):957–63.
10. Fryns JP, Van Buggenhout G. Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998; 81(2):171–6.
11. Therman E, Susman B, Denniston C. The non-random participation of human acrocentric chromosomes in Robertsonian translocations. *Ann Hum Genet.* 1989; 53:49–65.
12. Michael R Cummings, William S. Klug CAS. Mutaciones cromosómicas: variación en el número y ordenación de los cromosomas. In: Pearson, editor. *Conceptos de Genética.* 8o Edición. Madrid; 2006. p. 213–43.
13. Yongjian Chen, Jin Huang, Ping Liu JQ. Analysis of meiotic segregation patterns and interchromosomal effects in sperm from six males with Robertsonian translocations. *Balk J Med Genet.* 2007; 20(1):43–50.
14. Roux C, Tripogney C, Morel F, Joanne C, Fellmann F, Clavequin MC, et al. Segregation of chromosomes in sperm of Robertsonian translocation carriers. *Cytogenet Genome Res.* 2005; 296:291–6.
15. Chang EM, Han JE, Kwak IP, Lee WS, Yoon TK, Shim SH. Preimplantation genetic diagnosis for couples with a Robertsonian translocation: Practical information for genetic counselling. *J Assist Reprod Genet.* 2012; 29(1):67–75.
16. Benet J, Oliver-Bonet M, Cifuentes P, Templado C, Navarro J. Segregation of chromosomes in sperm of reciprocal translocation carriers: A review. *Cytogenet Genome Res.* 2005; 111(3–4):281–90.
17. Hook, EB, and Hamerton J. The frequency of chromosome abnormalities detected in consecutive newborn studies : Differences between studies. Results by sex and by severity of phenotypic involvement. In: Academic Press N York, editor. In Hook, E. 1977. p. 66–79.
18. Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Briault S, et al. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: An equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod.* 2001; 16(1):82–90.
19. Brugnol F, Janny L, Communal Y, Darcha C, Szczepaniak C, Pelletier F, et al. Apoptosis and meiotic segregation in ejaculated sperm from Robertsonian translocation carrier patients. *Hum Reprod.* 2010; 25(7):1631–42.
20. Antonio M, Loera Z, Mart R. Causas genéticas la infertilidad. *IECH.* 2013; 1–8.

-
21. **Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, et al.** Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* [Internet]. 1996; 11(suppl 4):1–26. Available from: https://academic.oup.com/hum-rep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/11.suppl_4.1
22. **Godó A, Vidal F, Blanco J.** Desequilibrios cromosómicos en espermatozoides de individuos portadores de translocaciones recíprocas. *Rev Embriol clínica y Biol la Reprod.* 2012; 17:12–6.
23. **Abramsson L, Beckman G, Duchek M, Nordenson I.** Chromosomal aberrations and male infertility. *J Urol* [Internet]. 1982;128(1):52–3. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)52752-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(17)52752-4)
24. **Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM.** Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod.* 2005; 20(2):437–42.
25. **Brassesso M.** Manual de andrología. Soc Española de Fertil [Internet]. 2011; 1–55. Available from: <http://www.sefertilidad.net/docs/grupos/andro/manual.pdf>
26. **Qinghua Shi and Renée H. Martin.** Aneuploidy in human spermatozoa: FISH analysis in men with constitutional chromosomal abnormalities, and in infertile men. *Reproduction* (2001) 121, 655–666
27. **Committee E.** Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. Assisted reproductive technology. In: 3rd ed. France; 2017. p. 261–80.