

João Paulo Greco de Freitas Cardoso

Fertilidade e reprodução em pacientes com diferenças do desenvolvimento sexual 46,XY por deficiência da 5 alfa redutase tipo 2: revisão da literatura e série de casos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências. Versão corrigida de acordo com a Resolução CoPGr 6018, de 13 de outubro de 2011

Programa de Urologia

Orientador: Dr. Marcello Antônio Signorelli Cocuzza

Co-orientadora: Professora Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça

São Paulo

2021

João Paulo Greco de Freitas Cardoso

Fertilidade e reprodução em pacientes com diferenças do desenvolvimento sexual 46,XY por deficiência da 5 alfa redutase tipo 2: revisão da literatura e série de casos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências. Versão corrigida de acordo com a Resolução CoPGr 6018, de 13 de outubro de 2011

Programa de Urologia

Orientador: Dr. Marcello Antônio Signorelli Cocuzza

Co-orientadora: Professora Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cardoso, João Paulo Greco de Freitas

Fertilidade e reprodução em pacientes com
diferenças do desenvolvimento sexual 46,XY por
deficiência da 5 alfa redutase tipo 2 : revisão da
literatura e série de casos / João Paulo Greco de
Freitas Cardoso. -- São Paulo, 2021.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Urologia.

Orientador: Marcello Antônio Signorelli Cocuzza.

Coorientadora: Berenice Bilharinho de Mendonça.

Descritores: 1.Deficiência de 5-alfa redutase
tipo 2 2.Infertilidade masculina 3.Técnicas de
reprodução assistida 4.Paternidade

USP/FM/DBD-413/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste trabalho, agradeço aos pacientes, ao Dr. Marcello Cocuzza, à Professora Dra. Berenice Bilharinho, à Professora Dra. Katia Leite, à Dra. Marlene Inácio, ao Departamento de Patologia do HCFMUSP, à Dra. Maria Helena Sircili, ao Dr. Guilherme Wood, à Dra. Camila Franchim e equipe do Centro de Reprodução Humana do HCFMUSP, aos residentes de Urologia HCFMUSP, à secretaria da pós graduação e à Elisa Cruz, à minha família e muito especialmente ao Vinícius Quintão.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
1.1 Considerações sobre as Diferenças do Desenvolvimento Sexual (DDS) e a DDS por deficiência de 5-alfa redutase tipo 2	12
1.1.1 Aspectos históricos.....	12
1.2.2 Aspectos atuais.....	14
1.2.3 Isoenzimas da 5ARD	15
1.2.4 Genética	16
1.2.5 Aspectos clínicos.....	16
1.2.6 Diagnóstico hormonal	19
1.2. Fertilidade e Deficiência da 5ARD2.....	19
1.2.1 Aspectos gerais da fertilidade em pacientes com 46,XY DDS.....	19
1.2.2 Deficiência de 5ARD2 e barreiras para a fertilidade.....	22
1.2.2.1 Aspectos da fertilidade relacionados à 5ARD2.....	22
1.2.2.2 Aspectos específicos relacionados à criptorquidia e histologia testicular.....	27
1.3 Considerações sobre a infertilidade masculina e técnicas de reprodução assistida	30
1.3.1 Conceitos em infertilidade masculina	30
1.3.2 Azoospermia, criptozoospermia e métodos de captação cirúrgica de espermatozoides	32
1.3.2.1 Micro-TESE e Criptorquidia.....	35
1.4 Revisão da literatura em fertilidade e assistência à reprodução nos portadores da deficiência da 5ARD2.....	37
2. Objetivos	43
3. Métodos e pacientes.....	44
4. Descrição dos casos	46
Paciente 1	46
Paciente 2	50
Paciente 3	54
Paciente 4	56
5. Discussão.....	58
6. Conclusões.....	58
7. Referências.....	59

LISTA DE SIGLAS

5ARD2	5-alfa redutase tipo 2
CRH	Centro de Reprodução Humana
DDS	Diferenças do desenvolvimento sexual
DHT	Diidrotestosterona
FSH	Hormônio folículo-estimulante
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
hCG	<i>Human Chorionic gonadotropin</i>
IC	Intervalo de confiança
ICSI	<i>Intracytoplasmic sperm injection</i> - injeção intracitoplasmática de espermatozoides
IUI	Inseminação intrauterina
LH	Hormônio luteinizante
MICRO-TESE	<i>Microscopic Testicular Sperm Extraction</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PSA	<i>Prostate Specific Antigen</i>
SHBG	Globulina ligadora dos hormônios sexuais
SARD2	Gene 5-alfa redutase tipo 2
TESA	<i>Testicular Sperm Aspiration</i>
TESE	<i>Testicular Sperm Extraction</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Localização testicular, volume testicular e análise seminal em Cai et al. ³⁸	24
Tabela 2 - Análises seminais antes e após correção de hipospádia (Cai et al. ³⁸)	25
Tabela 3 - Padrão histológico de 4 pacientes portadores de deficiência de 5ARD2 (Cai et al. ³⁸)	26
Tabela 4 - Perfil androgênico e volumes testiculares (Cai et al. ³⁸)	27
Tabela 5 - Análises seminais antes e após correção de hipospádia (Katz et al. ⁸⁵)	39
Tabela 6 - Análises seminais (Kang et al. ⁸⁶)	41
Tabela 7 - Exames laboratoriais do paciente 1	47
Tabela 8 - Análises seminais do paciente 1	47
Tabela 9 - Exames laboratoriais do paciente 2 (36 anos)	50
Tabela 10 - Evolução dos embriões do paciente 2.....	53
Tabela 11 - Exames laboratoriais do paciente 3 (22 anos)	54
Tabela 12 - Análises seminais do paciente 3	54
Tabela 13 - Espermograma do paciente 3 à época do ciclo de reprodução assistida	55
Tabela 14 - Exames laboratoriais do paciente 4	57
Tabela 15 - Fertilidade e assistência à reprodução dos pacientes portadores de deficiência de 5ARD2	60

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema ilustrativo sobre o papel da testosterona e da diidrotestosterona na diferenciação da genitália intrauterina. Imperato-McGinley et al. ²³	18
Figura 2 – Espermatogênese no homem, na ordem de maturação: Ad , espermatogônia adult dark; Ap , espermatogônia adult pale; B , espermatogônia tipo B; R-L-Z-P : estágios dos espermátocitos primários (repouso ou pré-leptóteno, leptóteno; zigóteno, paquíteno); II , espermátocito secundário; Sa(a) , Sb1 (b1) , Sb2 (b2) , Sc (c) , Sd1 (d1) , Sd2 (d2) : espermátides; Rb corpo residual. Quadro demonstra os 6 estágios do desenvolvimento do epitélio seminífero. Adaptado e modificado de Clermont Y: Renewal of spermatogonia in man. Am J Anat. 118:509, 1966 ²⁸	21
Figura 3 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 1	48
Figura 4 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 1	49
Figura 5 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 2	51
Figura 6 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 2	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Laudo anatomopatológico de material proveniente de micro-TESE de tratamento do paciente 1.....	49
Quadro 2 - Laudos anátomo-patológicos: biópsias diagnósticas exploratórias do paciente 2 (35 anos).....	52

RESUMO

Cardoso JPGF. *Fertilidade e reprodução em pacientes com diferenças do desenvolvimento sexual 46,XY por deficiência da 5-alfa redutase tipo 2: revisão da literatura e série de casos [dissertação]*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: As diferenças do desenvolvimento sexual 46,XY por deficiência na conversão da testosterona em seu metabólito mais ativo, a diidrotestosterona, ocorre por deficiência da ação catalítica da enzima 5-alfa-redutase tipo 2 (5ARD2). Indivíduos 46,XY com testículos e ductos ejaculatórios, mas com genitália externa subvirilizada constituem o fenótipo predominante. Há grande variabilidade fenotípica mesmo entre indivíduos com a mesma alteração genética. O painel de fertilidade nos portadores de deficiência de 5ARD2 é também diverso, com poucos relatos na literatura dos desfechos de paternidade espontânea e em reprodução assistida. **Objetivos:** O presente estudo tem como objetivo revisar a assistência à reprodução desses indivíduos na instituição e na literatura. **Métodos:** Revisão da literatura e estudo retrospectivo em relato de casos em pacientes portadores de diferenças do desenvolvimento sexual por deficiência de 5ARD2 acompanhados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) **Conclusão:** Tanto nos relatos de casos da instituição HCFMUSP quanto na literatura temos uma amostra da diversidade de fenótipos da síndrome e de seus tratamentos. Os relatos de paternidade espontânea e sucesso em reprodução assistida em sua maioria se associam a pacientes com testículos tópicos ao nascimento ou correção precoce. Temos, portanto, que considerar a possibilidade de diferença no tempo de abordagem em adequação da genitália externa e orquidopexia como fator de impacto no potencial reprodutivo dos pacientes. Em consonância com as publicações prévias, a correção precoce da criptorquidia e alterações uretrais podem estar entre as estratégias na prevenção de alterações na espermatogênese e fertilidade dos pacientes.

Descritores: Deficiência de 5-alfa redutase tipo 2; Infertilidade masculina; Técnicas de reprodução assistida; Paternidade

SUMMARY

Cardoso JPGF. *Fertility and reproduction in patients with 46, XY differences of sex development due to 5-alpha reductase type 2 deficiency: review of the literature and case series* [dissertation]. Sao Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021."

Introduction: The 46,XY differences of sex development due to deficient conversion of testosterone into its most active metabolite, the dihydrotestosterone, is caused by 5-alpha reductase type 2 (5ARD2) deficiency. 46,XY individuals with bilateral testicles, otherwise normal internal reproductive (vas deferens, seminal vesicles, ejaculatory ducts and epididymis), but prostate hypoplasia and undervirilized male genitalia are the predominant phenotype. Nevertheless, there is a great variability in clinical presentation, even within patients carrying the same mutation. Fertility amongst 5ARD2 patients is also diverse, with few reported cases in assisted reproduction. **Objectives:** Review of fertility and assisted reproduction of patients from the institution and literature review. **Methods:** Review of the literature and case series of 5ARD2 patients previously followed on Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) **Conclusion:** Reports and treatments identified and described are diverse, considering both the institution experience and published reports. The potential impact of the time between atypical genitalia procedures and orchidopexy on fertility, although controversial, is an interesting observation. Most successful assisted reproduction cases or even spontaneous paternity are reported on patients with descended testicles or early genital procedures. Early orchidopexy and penile and urethral corrections should be considered one of the strategies to preserve fertility potential on 5ARD2 patients.

Descriptors: 5-alpha reductase type 2 deficiency; Male infertility; Assisted reproduction; Paternity

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações sobre as Diferenças do Desenvolvimento Sexual (DDS) e a DDS por deficiência de 5-alfa redutase tipo 2

As DDS são um grupo altamente heterogêneo de condições congênitas em que há discrepância entre os cromossomos sexuais, gônadas ou sexo anatômico do indivíduo. A utilização atual do termo “diferença”, como alternativa ao termo amplamente utilizado “desordem”, foi seguida nesse texto. Conforme literatura atual, a opção anteriormente utilizada de nomenclatura não é universalmente aceita¹.

1.1.1 Aspectos históricos

Em 1961 Nowakowski e Lenz² realizaram as primeiras descrições do fenótipo de uma alteração do desenvolvimento sexual de herança autossômica recessiva, nomeado, à época, de hipospádia períneo-escrotal-pseudovaginal. As descrições incluíam indivíduos masculinos com genitália externa feminina, mas com testículos presentes bilateralmente, além de ductos ejaculatórios e demais estruturas urogenitais internas masculinas. No entanto, a relação etiológica da deficiência da enzima 5-alfa redutase tipo 2 (5ARD2) só foi primeiramente descrita em 1974, concomitantemente, nos trabalhos de Walsh e Imperato-McGinley^{3,4}

Em sua descrição, publicada no New England Journal of Medicine, Walsh utiliza o termo hipospádia períneo escrotal pseudovaginal³. São reportados os casos de duas irmãs, descritas como indivíduos de fenótipo feminino no início dos relatos. A irmã mais velha, relatada como caso índice, foi criada como menina até os 13 anos. Na época ainda não havia apresentado a menarca, além de não apresentar caracteres secundários femininos, como crescimento das mamas. Apresentou estirão característico, com modificação da voz, assumindo comportamento masculino. Ao exame físico, descrevia-se falo de 5x1.5 cm e massas inguiniais bilaterais, além de vagina em fundo cego. Cistoscopia demonstrou uretra feminina normal. O cariótipo era 46,XY. Foi

submetida a laparotomia exploradora, onde identificou-se testículos e vasos deferentes. O estudo contrastado dos deferentes evidenciou vesículas seminais e ducto ejaculatório conectados à vagina. Evidenciou-se ainda ausência de útero ou outras estruturas genitais femininas. Procedeu-se à orquiectomia bilateral. A histologia testicular é descrita como púbere, com espermatogênese inicial. As células de Leydig eram normais e a arquitetura dos túbulos seminíferos apresentava células de Sertoli bem desenvolvidas, bem como células da linhagem germinativa: espermatogônias, espermátides e espermatócitos, apesar da ausência de espermatozoides. A avaliação hormonal demonstrou índices de testosterona sérica compatíveis com as de homens adultos, mas a análise bioquímica de cortes teciduais do epidídimo, prepúcio e grandes lábios mostravam níveis de diidrotestosterona (DHT) praticamente indetectáveis. A paciente iniciou reposição hormonal estrogênica. A irmã afetada foi tratada de forma diferente. Um clitóris desenvolvido foi notado ao nascimento. Aos 2 anos, palpou-se gônadas junto aos grandes lábios e notou-se ausência de introito vaginal, sendo submetida a laparotomia exploradora. Não havia estruturas genitais femininas intra-abdominais. Realizou-se a orquiectomia, com a análise da histologia testicular evidenciando estrutura primitiva de cordões de células de Sertoli. Cortes do epidídimo também demonstravam estrutura tubular ainda não desenvolvida. Ela foi criada como menina, sem desenvolver caracteres sexuais masculinos em nenhum momento. O cariótipo era 46,XY.

Em seu trabalho, Walsh et al.³ levantaram ainda a hipótese de herança autossômica recessiva, levando-se em consideração a família do caso índice com outros irmãos com fenótipo masculino normal e uma irmã com fenótipo feminino e cariótipo 46,XX. As irmãs da mãe eram fenotipicamente do sexo feminino, tendo gerado filhos, afastando-se a possibilidade de herança ligada ao X para a condição.

Imperato-McGinley et al.⁴ publicaram no mesmo ano de 1974 a descrição de 13 famílias na República Dominicana, com um total de 24 afetados por pseudo-hermafroditismo masculino, termo utilizado na publicação. O trabalho descreve indivíduos com baixos níveis de diidrotestosterona sérica e elevada razão testosterona/diidrotestosterona, apontando-se para uma deficiência na formação de diidrotestosterona. O heredograma demonstra a

presença de ancestrais comuns aos indivíduos afetados por 7 gerações. A localidade é relativamente isolada, com ancestrais comuns e indivíduos carreadores fenotipicamente normais de ambos os sexos, o que corrobora com hipótese de herança autossômica recessiva. Dezoito indivíduos dos vinte e quatro foram criados como meninas até a adolescência, quando caracteres sexuais secundários mediados pela testosterona, como aumento de massa muscular, modificação da voz e desenvolvimento do falo ocorreram. No entanto, crescimento da próstata, barba, padrão masculino de entradas temporais e acne, mediados pela diidrotestosterona, não ocorreram. Imperato-McGinley et al. interessantemente abordam comportamento psicosssexual masculino dos indivíduos afetados, com identificação com sexo social masculino e libido direcionada ao sexo feminino, apesar da criação como meninas. A testosterona, e não a diidrotestosterona, teria papel na libido, considerando-se ainda as duas fases de exposição à testosterona nas fases intra-útero e puberal.

1.2.2 Aspectos atuais

Ao longo das últimas décadas houve modificação da terminologia e melhor caracterização da deficiência de 5ARD2, que agora é descrita dentro das diferenças do desenvolvimento sexual 46,XY. A conversão da testosterona em seu metabólito mais ativo, a diidrotestosterona é atribuída à ação catalítica da 5 α -RD2, deficiente na doença. Os indivíduos portadores têm cariótipo 46,XY com testículos e ductos ejaculatórios, possuindo genitália externa predominantemente feminina ao nascimento. No entanto, há grande variabilidade fenotípica, mesmo em pacientes com mesma mutação gênica, conforme discutido posteriormente.

A deficiência de 5ARD2 é uma síndrome rara, mas com distribuição mundial. Batista et al. realizaram revisão da literatura identificando 434 casos de deficiência de 5ARD2 em 44 países. A maioria dos casos são da Turquia (23%), China (17%), Itália (9%), e Brasil (7%).⁵ São comuns a consanguinidade, populações oriundas de ancestrais comuns e múltiplos indivíduos afetados em uma mesma família. Em 2019 foi publicada a descrição de uma coorte da Arábia Saudita, país com elevado índice de consanguinidade (54-58%).⁶

A ação androgênica da diidrotestosterona está presente no desenvolvimento fetal masculino, além de promover desenvolvimento e

crescimento tecidual também pós natal, onde há receptores.⁷ Pele genital, próstata, vesículas seminais, epidídimo e fígado são tecidos com alta expressão do gene *5ARD2*, sendo essa expressão reduzida em outros tecidos⁸. Testosterona e diidrotestosterona são agonistas competidores pelo mesmo receptor androgênico, que possui maior afinidade para a diidrotestosterona na região genital⁹.

O manejo adequado dos pacientes portadores de deficiência da *5ARD2* é ainda um grande desafio clínico¹⁰. A variação fenotípica se desdobra em uma ampla gama de manifestações clínicas, alterações anatômicas e funcionais que limitam condutas uniformizadas, conforme abordado nos tópicos subsequentes.

1.2.3 Isoenzimas da 5ARD

A 5ARD é sintetizada em duas formas, ou isoenzimas, a partir de 2 genes distintos, conforme identificação por Russell e Wilson¹¹ em 1994, a partir da clonagem de cDNA de humanos e ratos. Ambas são proteínas integrais do retículo endoplasmático, e possuem 50% de sequências idênticas. Apesar disso, possuem distintas propriedades cinéticas, farmacológicas e bioquímicas.

A 5ARD tipo 1 tem sua expressão gênica em níveis reduzidos durante o período fetal. Após o nascimento, sua expressão é permanentemente concentrada na pele não genital^{11,12}. Esta enzima possui 259 aminoácidos e é codificada pelo gene *SARD1*, localizado na banda 15 do braço curto do cromossomo 5.

A 5ARD tipo 2 possui 254 aminoácidos, sendo sintetizada a partir da transcrição do gene *SARD2* localizado na banda 23 do braço curto do cromossomo 2. Tem sua expressão precoce no tecido genital fetal, já no início da gestação, sendo na vida adulta expressa na próstata, epidídimo, vesículas seminais e fígado em taxas relativamente altas. A concentração da *5ARD2* em outros tecidos é baixa⁸. Essa isoenzima possui alta afinidade pela testosterona e progesterona¹³.

Uma terceira isoenzima da 5ARD foi recentemente descrita. É uma proteína de 318 aminoácidos com síntese a partir do gene *SARD3*, localizado no

braço longo do cromossomo 4. A descrição de sua atuação também é recente e envolve vias metabólicas do mevalonato, com potencial impacto em desordens neurológicas e oftalmológicas⁵.

1.2.4 Genética

A deficiência da 5ARD2 é herdada em padrão autossômico recessivo, conforme já aventado nos estudos iniciais Walsh et al. e Imperato-McGinley et al.^{3,4}. Populações consanguíneas têm maior frequência da doença, como é próprio do padrão de herança, sendo a deficiência da 5ARD2 resultado tanto de homozigose como de heterozigose composta. A presença de alelos em homozigose são mais comuns dentre os afetados¹³.

A primeira mutação foi caracterizada em 1991 por Anderson et al.¹⁴. Batista et al.⁵, em sua revisão publicada em 2020, listam 126 variantes alélicas, cadastradas no *Human Mutation Database do Institute of Medical Genetics* em Cardiff, País de Gales, Reino Unido (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). As mutações predominam nos éxons 1 (33%) e 4 (25%)⁵, sendo a maioria mutações *missense*, com descrições também de pequenas deleções, mutações em sítios de splicing, códons de parada, pequenas inserções, pequenas indels e deleções maiores em menor proporção¹⁵.

As diversas variantes alélicas do gene se manifestam no amplo espectro de alterações da genitália externa⁵. Diferentes transcrições gênicas geram enzimas não funcionais ou disfuncionais com distintos graus de atividade enzimática^{7,16}. No entanto, não há forte relação genótipo-fenótipo, e indivíduos portadores da mesma variante podem manifestar expressões fenotípicas distintas⁵. Esse fato sugere a existência de outros fatores de interferência¹⁵, como transdução de sinal mediada por receptores androgênicos, níveis de testosterona intrauterino e outros fatores ambientais^{7,17}.

1.2.5 Aspectos clínicos

A diversidade nos fenótipos da deficiência de 5ARD2 reflete a multiplicidade de mutações já descritas, além da influência de fatores ainda não

completamente definidos. Ao longo dos anos as publicações descrevem progressivamente mutações e expressões gênicas distintas, com diferentes taxas de atividade enzimática e outros possíveis fatores influenciadores. Essa variabilidade resultou na ampliação do espectro de manifestações, que evoluiu muito desde a primeira descrição de hipospádia períneoescrotal pseudovaginal.

No entanto, a variabilidade fenotípica deficiência de 5ARD2 é justamente uma de suas características mais notáveis. Indivíduos afetados em uma mesma família tem variação de seus fenótipos, e mesmo famílias distintas que compartilham a mesma mutação possuem diferentes fenótipos¹⁰. A variação da expressão gênica com diferentes graus de sub-virilização da genitália pode advir do próprio subsídio genético distinto, atividade residual enzimática ou mesmo ação da 5ARD tipo 1¹⁸.

A morfologia da genitália externa pode variar desde quase feminina até genitália masculina sub virilizada^{4,10,19}. Outras descrições possíveis se encontram no espectro de formação da uretra peniana. Meninos portadores se apresentam com hipospádia peniana ou escrotal, ou raramente com uretra peniana habitual. Distúrbios de formação do falo, como micropênis isolado, apesar de raros, foram também descritos^{18,20}.

A base fisiológica dos achados clínicos morfológicos da síndrome é a função da testosterona e da diidrotestosterona no desenvolvimento do sistema genital. Estruturas reprodutivas internas derivadas dos ductos mesonéfricos (Wolff) são em geral normais e não dependem diretamente da ação da diidrotestosterona: ductos deferentes, vesículas seminais, epidídimo e ductos ejaculatórios. As estruturas derivadas dos ductos paramesonéfricos (Müller) não se desenvolvem, da mesma forma que em indivíduos não-afetados, uma vez que a regressão desses ductos é mediada pelo hormônio anti-mulleriano, glicoproteína secretada pelas células de Sertoli.

O desenvolvimento da próstata a partir do epitélio do seio urogenital depende da conversão local da testosterona em diidrotestosterona. O crescimento da próstata e seu desenvolvimento durante o período embrionário, fetal e neonatal é também dependente da ação da diidrotestosterona²¹. Indivíduos portadores de deficiência de 5ARD2 possuem próstatas hipoplásicas, dependendo da atividade residual da enzima. O tamanho da próstata em

ultrassonografia transretal e ressonância magnética é reduzido em relação a indivíduos não afetados da mesma idade²². Essa alteração gera consequências na dinâmica e funcionalidade do sêmen, conforme abordado adiante.

A diferenciação da genitália ocorre entre a 8^a e 14^a semana de gestação, sendo a formação da genitália externa masculina totalmente dependente da ação local androgênica. O tubérculo urogenital se alonga em resposta a ação da diidrotestosterona, no processo da formação do falo. Sob ação da diidrotestosterona, as dobras urogenitais também sofrem alongamento e fusão, com formação da uretra peniana. Além disso, as estruturas denominadas intumescências lábio escrotais sofrem fusão na linha mediana, formando o escroto.

A formação do testículo em geral é habitual. No entanto, a maioria dos pacientes com deficiência da 5ARD2 tem testículos criptorquídicos, localizados no canal inguinal. Essa manifestação frequente sugere papel da DHT na migração testicular ao escroto¹⁰, embora a atuação específica dos diferentes androgênicos no controle hormonal do processo de descida dos testículos ainda não seja definida.

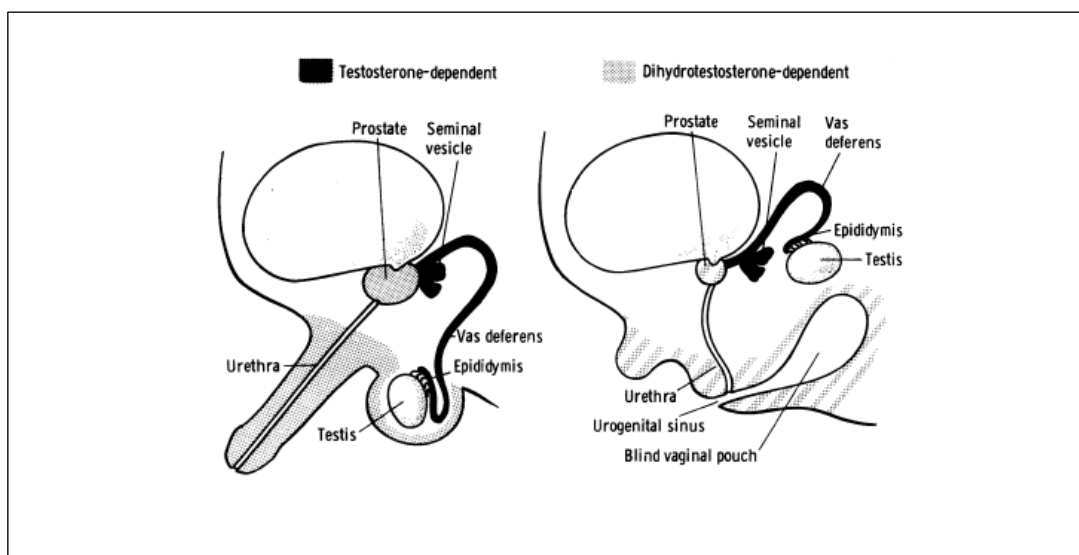


Figura 1 – Esquema ilustrativo sobre o papel da testosterona e da diidrotestosterona na diferenciação da genitália intrauterina. Imperato-McGinley et al.²³

Os pacientes afetados em sua maioria são registrados e criados como meninas, mas sofrem virilização a partir da puberdade. Nessa fase, cerca de 50% desses pacientes apresentam identificação com o sexo social masculino. Ocorre engrossamento da voz, desenvolvimento muscular e virilização da genitália externa. A estatura dos pacientes é semelhante à dos irmãos não afetados²⁴.

1.2.6 Diagnóstico hormonal

O diagnóstico hormonal pode ser feito ao nascimento, na infância ou puberdade. Nas crianças é necessário o estímulo de produção da testosterona com hCG, antes da dosagem de testosterona e diidrotestosterona, uma vez que o cálculo da relação testosterona/diidrotestosterona é feito com níveis pós-puberais de testosterona. O diagnóstico é estabelecido através de elevada relação testosterona/diidrotestosterona, em geral acima de 25, podendo chegar a valores mais elevados nos casos mais graves¹⁵.

1.2. Fertilidade e Deficiência da 5ARD2

1.2.1 Aspectos gerais da fertilidade em pacientes com 46,XY DDS

A fertilidade é um aspecto importante na maioria dos indivíduos portadores de 46,XY DDS²⁵. Dessa forma, a discussão e o aconselhamento no contexto de assistência integral é essencial, considerando-se tanto o potencial de fertilidade, quanto formas alternativas de paternidade e orientação sexual¹.

Os indivíduos com 46,XY DDS manifestam barreiras para a fertilidade relacionadas a múltiplos aspectos: desenvolvimento embrionário, alterações do perfil hormonal, procedimentos cirúrgicos prévios e diferenças anatômicas.

A fertilidade masculina depende dessa série de fatores e processos hormonais, anatômicos e funcionais que permitem a gênese dos gametas, seu transporte através das estruturas genitais masculinas e sua condução ao

aparelho genital feminino para potencial fertilização do oócito. Alterações em uma ou múltiplas fases desse processo podem comprometer o potencial reprodutivo.

São esses processos:

Espermatogênese: a gametogênese masculina está relacionada a pelo menos dois mil genes, vários localizados no cromossomo Y e outros localizados nos autossomos²⁵. É também necessária adequada integridade celular do parênquima testicular, correta proporção e interação entre as diferentes populações celulares e sua regulação por mecanismos hormonais endócrinos e parácrinos. Isso depende de uma complexa rede de interação entre as células de Leydig, células de Sertoli, células peritubulares e células germinativas²⁶. As células de Sertoli são responsáveis por manter o microambiente para maturação das células germinativas e orquestrar uma intrincada sequência de sinalizações. A espermatogênese compreende 3 fases: (1) fase proliferativa, em que espermatogônias Ad (*adult dark*) se proliferam por mitose para manutenção do pool de células germinativas; (2) fase meiótica: espermatogônias Ap (*adult pale*) se diferenciam em espermatogônias B, que se dividem por mitose em espermatócitos primários, ainda diplóides. Essas são as células mais abundantes, que sofrerão meiose I, dando origem a duas células do tipo espermatócitos secundários, haplóides com cromossomos de duas cromátides. Ao fim da meiose II, espermatócitos secundários dão origem a 4 espermatídes haplóides com cromossomos de uma cromátide. As espermatídes redondas sofrerão o processo de espermiogênese, isto é, diferenciação a espermatozoides²⁶. Um ciclo completo de gametogênese pode durar de 42 a 76 dias, sendo variável entre os indivíduos²⁷.

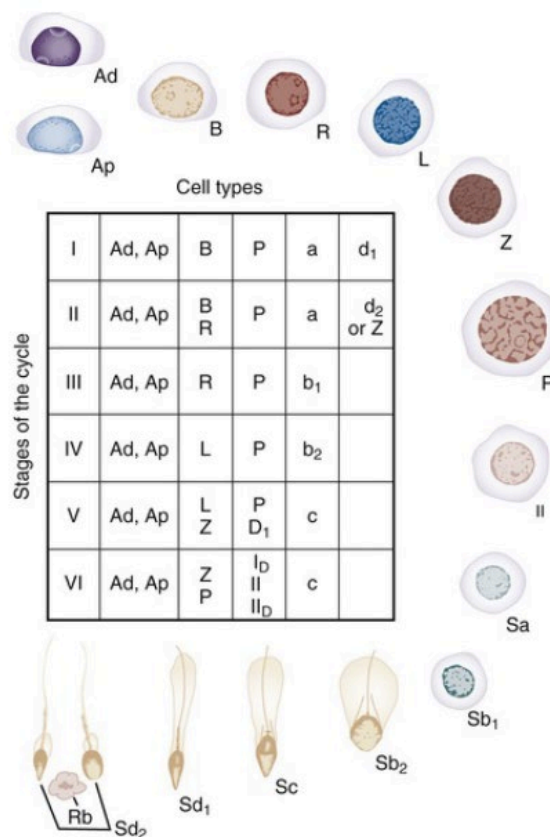


Figura 2 – Espermatogênese no homem, na ordem de maturação: **Ad**, espermatogônia adult dark; **Ap**, espermatogônia adult pale; **B**, espermatogônia tipo B; **R-L-Z-P** : estágios dos espermatócitos primários (repouso ou pré-leptóteno, leptóteno; zigóteno, paquíteno); **II**, espermatócito secundário; **Sa(a)**, **Sb1 (b1)**, **Sb2 (b2)**, **Sc (c)**, **Sd1 (d1)**, **Sd2 (d2)**: espermátides; **Rb** corpo residual. Quadro demonstra os 6 estágios do desenvolvimento do epitélio seminífero. Adaptado e modificado de Clermont Y: *Renewal of spermatogonia in man*. *Am J Anat*. 118:509, 1966²⁸

Transporte dos espermatozoides pelo trato genital masculino: Após as etapas de gametogênese os espermatozoides são liberados no lúmen dos túbulos seminíferos e então transportados ao epidídimo. O epidídimo é um órgão chave na maturação dos espermatozoides e local onde ocorrem mudanças bioquímicas e moleculares. É responsável por processos de maturação, transporte, concentração e armazenamento²⁹. Cerca de 2 a 6 dias é o período de trânsito entre a cabeça do epidídimo, primeira porção após o testículo, e a cauda do epidídimo, sítio onde até 60% dos espermatozoides epididimários ficam armazenados. Durante o estímulo à ejaculação, os espermatozoides são então conduzidos à uretra prostática.

Condução dos espermatozoides ao meio externo: a ejaculação é um complexo processo que envolve interação entre vias neuronais periféricas,

cerebrais e medulares sensitivas e motoras³⁰. Ocorre em duas etapas: emissão e expulsão. Já no início do estímulo sexual ocorre o fechamento do colo vesical, para evitar a ejaculação retrógrada, e contração da próstata com lubrificação da uretra. Segue a primeira etapa, a emissão, quando os espermatozoides e fluido seminal são conduzidos através do deferente, da cauda do epidídimo até a uretra prostática, onde se combinam com as secreções das vesículas seminais e da próstata. A expulsão³¹ é a segunda etapa, em que contração rítmica dos músculos isquiocavernosos, bulboesponjosos e outros músculos periuretrais expulsa o conteúdo da uretra prostática ao meio externo. Todo o processo é considerado um arco reflexo, comandando tanto pelo sistema nervoso autossômico quanto pelo somático.

1.2.2 Deficiência de 5ARD2 e barreiras para a fertilidade

1.2.2.1 Aspectos da fertilidade relacionados à 5ARD2

No contexto das DDS 46,XY a deficiência de 5ARD2 pode alterar o potencial de fertilidade dos indivíduos em múltiplos aspectos, da gametogênese ao transporte dos espermatozoides e ejaculação. Em geral os paciente apresentam baixo volume ejaculado, alta viscosidade e oligozoospermia, mas a fertilidade biológica (filhos com o próprio material genético) é possível¹.

Embora a gênese do parênquima gonadal seja preservada, é muito frequente a alteração da migração testicular e consequente criptorquidia. Conforme pormenorizado em tópico subsequente, a criptorquidia tem importante impacto na gametogênese. Por outro lado, alterações diretas da espermatogênese secundárias à mutação do gene *S5ARD2* ainda não foram definidas, nem mesmo descartadas.

Do ponto de vista hormonal, os indivíduos homozigotos para deficiência de 5ARD2 têm, em geral, valores normais de testosterona sérica. A participação pivotal da testosterona na espermatogênese vem sendo descrita há muitos anos³²⁻³⁴, sendo que sua elevada concentração no ambiente

intratesticular é essencial³⁵. De fato, os níveis de testosterona intratesticular são 100 vezes maiores que os níveis séricos³⁶. A DHT, embora tenha maior afinidade pelos receptores androgênicos, não apresenta concentrações intratesticulares tão elevadas, representando apenas 2% da concentração de testosterona³⁷. Esse fato pode sugerir que a influência na espermatogênese seja maior pela testosterona²², sendo a função da DHT possivelmente mais relacionada a regulação do volume e da viscosidade seminal.

A hipoplasia prostática é outro aspecto muito importante da deficiência de 5ARD2. O estudo de Imperato-McGinley et al. de 1992²² descreve achados de ultrassonografia transretal e imagem por ressonância magnética em doze homens portadores. Na comparação do volume prostático com homens de idade pareada, indivíduos afetados podem ter volumes prostáticos até 10 vezes menores, medidos por ambos os métodos. Em 4 desses indivíduos foi realizada dosagem de PSA, sendo essa indetectável. Nos 2 pacientes em que se realizou biópsia prostática, demonstrou-se tecido conjuntivo fibrose, tecido muscular liso e ausência de tecido epitelial prostático. A hipótese é que a baixa concentração da DHT permite desenvolvimento parcial da próstata, mas que a porção glandular não se desenvolve ou se apresenta atrófica nos indivíduos afetados. Um total de dez pais, heterozigotos para deficiência de 5ARD2, apresentavam volume prostático normal²².

Conforme mencionado anteriormente, a próstata tem papel na produção de líquido seminal (cerca de 30% do volume total), juntamente com as vesículas seminais. Produz ainda o PSA (*prostate-specific antigen*), uma protease responsável pela liquefação do sêmen após sua deposição no canal vaginal. A próstata ainda participa ativamente da dinâmica pré-ejaculatória. Indivíduos afetados têm sêmen com baixo volume, consistência de gel e importante falha na liquefação por ausência ou redução do PSA³⁸.

As alterações anatômicas na genitália externa também têm potencial de interferir na reprodução. O tamanho peniano reduzido e alterações da localização do meato uretral e anatomia da uretra podem dificultar a relação sexual e a deposição do sêmen de forma adequada, o que pode ocorrer mesmo após correção cirúrgica. Essas características, aliadas à hipoplasia prostática, reduzem a possibilidade de uma gestação espontânea.

Um estudo de 1994 por Cai et al.³⁸ realizou interessante descrição e discussão sobre influências da deficiência de 5ARD2 no sêmen em pacientes estudados até aquela data. Os pesquisadores realizaram a avaliação seminal em 9 pacientes, sendo 7 da coorte original da República Dominicana. Eles tinham entre 20 e 30 anos na época das análises seminais. A localização dos testículos era distinta: seis indivíduos possuíam ambos os testículos tópicos (Tabela 1), dois possuíam um testículo em bolsa testicular e um testículo em canal inguinal, entre o anel inguinal externo e o anel inguinal interno, e um indivíduo possuía testículos retráteis bilaterais. Todos possuíam atipia genital com hipospádia perineoescrotal pseudovaginal e optaram por cirurgias de adequação, sendo que cinco pacientes colheram amostras de sêmen antes e após as cirurgias.

Tabela 1 - Localização testicular, volume testicular e análise seminal em Cai et al.³⁸

Localização Testicular	Volume (mL)	n de espermatozoides /mL (10 ⁶)	n de espermatozoides total (10 ⁶)	Motilidade (%)	Morfologia normal (%)	Liquefação
I - Tópicos						
1	0.15	321	48.2	56	71	Não
2	0.5	2	1	0	36	Não
3	0.4	12	4.8	10	59	Não
4	0.8	<1	<1	ND	ND	ND
5	0.1	<1	<1	0	<1	Não
6	1.0	0	0	0	0	Não
II - Criptorquidia unilateral						
7	<0.05	<1	<1	0	4	Não
8	0.5	0	0	0	0	Não
III - Retrátil bilateral						
9	0.2	0	0	0		Não
Referência (OMS 1992)	> 2	> 20	>40	>50	>45	Sim

Todas as amostras foram coletadas por masturbação. Observa-se importante redução de volume seminal, bem como ausência de liquefação (em todas as análises seminais em que esse dado estava disponível).

Em termos de concentração de espermatozoides e motilidade, apenas o paciente 1 estava dentro dos parâmetros da OMS à época do estudo, e também na referência atual. Demais amostras mostraram oligozoospermia ou azoospermia.

As análises de valores basais e após correção da hipospádia estão disponíveis para 6 participantes, todos originalmente com testículos tópicos, conforme Tabela 2. Para todos os pacientes houve liquefação das amostras após a correção cirúrgica. Observa-se resposta variável em termos de volume do ejaculado, embora todos permanecessem com baixo volume. Três pacientes apresentaram aumento relativo do volume espermático enquanto dois pacientes apresentaram redução do volume.

Tabela 2 - Análises seminais antes e após correção de hipospádia (Cai et al.³⁸)

Localização Testicular: testículos tópicos	Vol. (mL)	Concentração (10^6 /mL)	Total espermatozoides no ejaculado (10^6)	Motilidade (%)	Morfologia normal (%)	Liquefação
1 Basal	0.15	321	48.2	56	71	Não
Pós	0.5	107	53.5	33	46	Sim
2 Basal	0.5	2	1	0	36	Não
Pós	0.2	108	16.2	1	30	Sim
4 Basal	0.8	<1	<1	ND	ND	ND
Pós	<0.5	<1	<1	10	34	Sim
5 Basal	0.1	<1	<1	0	<1	Não
Pós	0.2	18	3.6	0	0	Sim
6 Basal	1.0	0	0	0	0	Não
Pós	0.3	<1	<1	13	5	Sim
Referência (OMS 1992)	>2	>20	>40	>50	>45	Sim

Foram realizadas biópsias testiculares e estudo anatomopatológico em 4 pacientes, conservadas em meio Bouin, coletadas durante a correção da hipospádia, fixadas em parafina e coradas por hemotoxilina e eosina. Observa-se padrão histológico variável, com diferentes estágios de maturação da

linhagem germinativa e diferentes proporções de esclerose tubular. Não há clara correlação entre a descrição histológica e a análise seminal. Por exemplo, no paciente 3 não foram visualizadas células germinativas na amostra tecidual, embora a amostra seminal mostrasse oligozoospermia³⁸. Há grande heterogeneidade do parênquima testicular, com presença de diferentes fases e “ilhas” de espermatogênese, além da característica da biópsia representar apenas um diminuto segmento testicular. Esse é um fato que se transpõe também na prática clínica.

Tabela 3 - Padrão histológico de 4 pacientes portadores de deficiência de 5ARD2 (Cai et al.³⁸)

Paciente	Histologia	Análise seminal	Localização testicular
1	Redução geral da espermatogênese. Poucos espermatozoides maduros. Compartimento de células germinativas com pequeno número de células. Descamação de espermatogônias. Espessamento da membrana basal dos túbulos seminíferos.	Concentração, motilidade e morfologia normais	Escrotal
3	Atrofia generalizada. Células de Sertoli de aspecto imaturo. Ausência de células germinativas. Esclerose da membrana basal dos túbulos seminíferos	Oligozoospermia, astenozoospermia, morfologia limitrofe	Escrotal
4	Hipoespermatogênese grave. Visualizados alguns espermatozoides maduros. Certa descamação intraluminal de espermatócitos imaturos. Túnica própria proeminente.	Oligozoospermia severa	Escrotal
8	População de células germinativas acentuadamente reduzida. Presença de espermatogônias e espermatócitos primários, formas celulares mais maduras raramente detectadas. Sem espermátides maduras. Fibrose peritubular difusa.	Azoospermia	Canal inguinal distal

O padrão hormonal está também disponível, bem como volume testicular, expostos na Tabela 4. O paciente 9 é o que possui o menor volume testicular, sendo esse o paciente com testículos retráteis à época da avaliação.

Tabela 4 - Perfil androgênico e volumes testiculares (Cai et al.³⁸)

Paciente	Idade	Testosterona (ng/dl)	DHT (ng/dL)	T/DHT	Volume Testicular D/E (mL)
1	20	1101	28.8	38	25/20
2	24	793	24.8	29.7	14/15
3	21	1107	17.8	62	ND
4	22	879	15.8	55	18/20
5	24	819	16.7	49	13/13
6	22	1041	50.4	20	15/12
7	30	1052	15.5	67	ND
8	24	1052	17.8	59	15/12
9	20	856	27.7	30	10/8
<i>Referência</i>		299-951	28.8-69	8-17	

1.2.2.2 Aspectos específicos relacionados à criptorquidia e histologia testicular

Conforme já descrito, o fenótipo da deficiência de 5ARD2 está associado mais frequentemente à criptorquidia, embora haja descrições de pacientes com testículos tópicos ao nascimento³⁹. Mesmo havendo a descida espontânea, que pode ocorrer durante a virilização na puberdade e já reportada previamente^{38,40}, ou realizada por correção cirúrgica, há um atraso no posicionamento dos testículos que tem importante potencial em prejudicar a espermatogênese. No estudo recente publicado estudo prospectivo de Jiang et al.⁴¹, o diagnóstico de outras alterações da genitália é levantado como potencial fator de atraso no encaminhamento ao tratamento da criptorquidia.

A criptorquidia é uma das condições cirúrgicas mais comuns na faixa pediátrica, embora as taxas de incidência sejam variáveis, com registros de 1 a 4 % em neonatos⁴² a termo e de 15 a 45% dos neonatos prematuros^{43,44}. É em geral uma condição congênita, com diagnóstico ao nascimento. Quando os testículos previamente localizados na bolsa se tornam extra-escrotais classificam-se como criptorquidia adquirida/ascendente. Os testículos localizados no escroto, mas que facilmente se deslocam para fora da bolsa testicular com o reflexo cremastérico são classificados como retráteis. Os testículos criptorquídicos podem se localizar em qualquer ponto da via de migração dos testículos, sendo a apresentação unilateral ou bilateral. O quadro é unilateral em

60 a 70% dos casos não relacionados a síndromes. Dentre os casos unilaterais, localiza-se à direita em até 70% dos pacientes⁴⁵.

Alguns fatores etiológicos para a criptorquidia já foram descritos, como síndromes de gene único e genes múltiplos, fatores hormonais e exposição materna e perinatal. No entanto, o mecanismo específico de migração testicular e causas para sua alteração ainda permanece em elucidação⁴⁶. Da mesma forma, a associação da criptorquidia com infertilidade e risco de neoplasias testiculares, já classicamente descrita na literatura, ainda tem o mecanismo exato pouco conhecido⁴².

Considerando-se especificamente o impacto na fertilidade, as taxas de paternidade diferem entre pacientes com criptorquidia unilateral e bilateral: 50-60% para bilateral e 81-90% para unilateral^{47,48}. Schneuer et al., em amplo estudo populacional australiano, observou 7499 meninos com diagnóstico de criptorquidia isolada nascidos entre 1970 e 1999 e seguidos até 2016. Houve associação da criptorquidia com redução de 21% na taxa de paternidade (Razão de risco: 0.79 [0.74-0.85])⁴⁹

Os mecanismos sugeridos para impacto da criptorquidia na fertilidade se relacionam à redução populacional de células germinativas, alteração da maturação das células germinativas, depleção de células de Leydig e fibrose intersticial⁵⁰. Essas alterações histológicas estariam associadas com diferenças dos parâmetros seminais nos adultos^{51,52}. Atualmente os estudos em biópsias testiculares acrescentaram ao conhecimento a alteração na proporção de maturação de células germinativas a espermatogônias *adult dark* (Ad) e modificações na resposta das células de Leydig. Esses efeitos da criptorquidia seriam identificáveis mesmo antes da clássica alteração populacional de células germinativas⁵³.

A formação inicial dos testículos depende da migração de células germinativas primordiais para as fendas gonadais, onde se proliferam, entre a 4ª e 6ª semana de gestação. Na 7ª semana de gestação, pela presença do gene SRY e outros sinalizadores, ocorre a formação dos testículos, com diferenciação das células mesenquimais em células epiteliais de Sertoli e células de Leydig. A partir da formação do testículo as células germinativas primordiais do interior dos cordões testiculares são denominadas gonócitos⁴². Por volta dos 3 meses de

idade, os gonócitos migram para a membrana basal dos cordões seminíferos e diferenciam-se em espermatogônias *adult dark* (Ad), a reserva de células auto-replicas que serve como base da futura espermatogênese^{54,55}. Essa diferenciação coincide com o período chamado de *mini-puberty*, pico das gonadotrofinas LH e FSH, além de testosterona, inibina B e hormônio anti-mulleriano⁴². A segunda etapa de maturação ocorre entre o 3º e 5º ano de vida, com o desenvolvimento dos espermatócitos primários (primeira fase da meiose) a partir das células germinativas⁵³.

O papel da *mini-puberty* na diferenciação das espermatogônias ainda é objeto de discussão, no entanto a ocorrência sequencial desses eventos parece ser importante⁴². Há evidências que a diferenciação dos gonócitos em espermatogônias Ad é influenciada por androgênios, considerando os trabalhos de Hadziselimovic et al.^{56,57} em meninos submetidos a orquidopexia com estímulo prévio de hCG, nos quais havia maior número de espermatogônias Ad no momento da cirurgia.

O momento em que a correção cirúrgica é realizada impacta no potencial reprodutivo, apesar de ainda não ter sido definido qual o momento ideal. Em outro trabalho, Hadziselimovic et al.⁵⁸ identificaram uma associação negativa entre a idade de correção (antes e após os 2 anos) e a população de células germinativas. Embora todos os pacientes com correções cirúrgicas após os dois anos apresentassem alteração histológica, a associação com baixas concentrações seminais não foi automática. No entanto, doze entre treze pacientes com ausência de espermatogônias Ad eram azoospermicos ou oligozoospermicos. Rohayem et al. identificaram azoospermia em 28% dos pacientes com criptorquidia unilateral e 46% dos com criptorquidia bilateral. Entre os pacientes da coorte com histórico de testículos criptorquídicos, 21% tinham concentração de espermatozoides acima de 15 milhões/mL. Entre os pacientes com criptorquidia bilateral apenas 12% tinham concentração seminal acima de 15 milhões/mL, em contraste com 27% dos pacientes com histórico de criptorquidia unilateral ($p= 0.01$). Quando analisados em conjunto e em relação a pacientes sem histórico de criptorquidia, houve diferença estatística significativa para os parâmetros volume testicular, níveis de FSH, LH e

concentração espermática ($p < 0.001$). Houve relação inversa da idade de correção cirúrgica com o volume testicular e concentração seminal⁵⁹.

Em outro recente trabalho, Hildorf et al.⁶⁰ analisaram retrospectivamente 333 meninos com criptorquidia não relacionada a síndromes, submetidos a orquidopexia antes do primeiro ano de vida. Apesar da intervenção precoce, 23% não apresentavam espermatogônia Ad na avaliação histológica, estando com risco de prejuízo à fertilidade futura.

No contexto de reprodução assistida, o estudo de Schnauer et al. também observou diferenças entre pacientes com correção antes e após 18 meses de vida em termos de assistência à reprodução. Meninos com diagnóstico de criptorquidia tinham 2 vezes mais risco de utilizar métodos de reprodução assistida, mas houve redução do risco para 1.3 vezes quando a correção cirúrgica foi realizada antes dos 18 meses.⁴⁹

O *guideline* de 2020 da *European Association of Urology* (EAU) em conjunto com a *European Society of Paediatric Urology* (ESPU)⁶¹ recomenda a correção cirúrgica entre 6 e 12 meses e no máximo até os 18 meses de idade, para otimização da preservação do potencial de fertilidade. No entanto, o tempo para correção pode ser muito variável. Jiang et al.⁴¹ realizaram estudo prospectivo nos EUA sobre tempo para encaminhamento dos meninos com criptorquidia. A maioria dos 178 pacientes (64%) foi referenciada após os 18 meses de idade, 53% já tinham criptorquidia ao nascimento. Interessantemente, apesar de 15% terem histórico familiar de criptorquidia, 77% desses pacientes foram referenciados com atraso.

1.3 Considerações sobre a infertilidade masculina e técnicas de reprodução assistida

1.3.1 Conceitos em infertilidade masculina

A Organização Mundial de Saúde define infertilidade como falha em se atingir uma gestação clínica após doze meses ou mais de relações sexuais regulares sem métodos contraceptivos. Aproximadamente 8-15% dos casais se

encaixam nessa definição sendo 20% das causas de infertilidade conjugal exclusivamente masculinas. Fatores masculinos, no entanto, contribuem em 30-40% dos casos de infertilidade conjugal, em conjunto com fatores femininos.⁶²

Azoospermia é a ausência de espermatozoides no ejaculado, presente em até 1% dos homens e em 10 a 15% dos homens inférteis⁶³. São necessárias duas amostras distintas submetidas a centrifugação com análise do pellet e confirmação da ausência de espermatozoides.⁶⁴

A azoospermia tem sua base etiológica em alterações pré-testiculares, testiculares e pós-testiculares. Causas pré-testiculares estão relacionadas a alterações endócrinas que afetam o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e estímulo à síntese hormonal e espermatogênese. Causas testiculares envolvem falência primária do testículo com alteração da espermatogênese. A etiologia pós-testicular relaciona-se a alterações ejaculatórias e obstruções ao trânsito de espermatozoides. Na prática clínica e nos *guidelines* utilizam-se os termos azoospermia obstrutiva e azoospermia não-obstrutiva, com a azoospermia não-obstrutiva dividida em central e testicular.⁶³

É importante distinguir azoospermia e aspermia, que é completa ausência do ejaculado. Os casos de aspermia podem se relacionar a completa ausência de produção seminal ou incapacidade na eliminação anterógrada do sêmen. Essas alterações da dinâmica de transporte do sêmen incluem³⁰:

1. Ausência de emissão ou anejaculação, por obstrução dos ductos ejaculatórios, cirurgias como prostatectomia e outras ressecções de órgãos pélvicos, irradiação pélvica, trauma pélvico, trauma raquimedular, outras condições neurológicas, diabetes, Parkinson, ansiedade e estresse.

2. Ejaculação retrógrada: alterações da dinâmica do colo vesical, como uso de medicações alfa bloqueadoras, cirurgias de ressecção local, cirurgias de retroperitônio, condições neurológicas, trauma raquimedular, diabetes.³⁰

A criptoospermia é definida pela OMS como a visualização de espermatozoides apenas no pellet após centrifugação⁶⁴. É uma situação em que pouquíssimos espermatozoides são ejaculados. A criptoospermia é relacionada a focos de espermatogênese no parênquima testicular ou flutuação das taxas de espermatogênese^{65,66}. Homens com criptoospermia podem

coletar amostras seriadas para criopreservação e reprodução assistida por ICSI.⁶⁷ No entanto, pela característica clínica do diagnóstico, esses pacientes podem eventualmente se tornarem azoospermicos em amostras subsequentes, com a possibilidade de necessitarem de cirurgias exploratórias para captação de espermatozoides⁶⁸.

1.3.2 Azoospermia, criptozoospermia e métodos de captação cirúrgica de espermatozoides

A população de pacientes azoospermicos e criptozoospermicos representa um desafio à assistência à reprodução, uma vez que necessitam ou podem necessitar de procedimentos para captação de espermatozoides.

De fato, foi nessa população em que a terapêutica mais se modificou nas últimas décadas. Até o final da década de 90 as únicas opções aos pacientes azoospermicos não obstrutivos era recorrer aos bancos de sêmen de doador ou à adoção⁶⁹. Isso porque os métodos de captação espermática ofereciam baixas taxas de sucesso, além do entendimento prévio de que os espermatozoides deveriam obrigatoriamente atravessar todo o trato genital masculino antes de estarem aptos à fertilização⁷⁰. Ao desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de captação de espermatozoides testiculares, aliou-se a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) para fertilização dos oócitos. A ICSI realiza a injeção direta de um espermatozoide em cada óvulo, possibilitando sua aplicação em casos com poucos gametas masculinos disponíveis. Essas modificações nas técnicas de reprodução assistida permitiram aos pacientes azoospermicos não-obstrutivos e criptozoospermicos a possibilidade de fertilidade com gametas próprios.

As técnicas atualmente empregadas na captação de espermatozoides testiculares na azoospermia são a extração testicular de espermatozoides ou *testicular sperm extraction* (TESE) e a extração microscópica testicular de espermatozoides ou *testicular sperm extraction microdissection-TESE* (micro-TESE).⁷¹

Outra técnica de captação de espermatozoides testiculares, mas utilizada mais frequentemente em pacientes com azoospermia obstrutiva é a

aspiração de espermatozoides testiculares ou *testicular sperm aspiration* (TESA).

O princípio da azoospermia não obstrutiva é a grave deficiência de espermatogênese, que determina ausência de espermatozoides no ejaculado⁶⁹. Em alguns casos essa baixa produção pode se expressar como raros espermatozoides após centrifugação seminal e avaliação do pellet, ou criptozoospermia, conforme já exposto previamente. A base histológica da azoospermia são os seguintes padrões anátomo-patológicos:

1. Hipoespermatogênese (redução da taxa de túbulos seminíferos com estágios completos até espermatozoides).
2. Parada de maturação (células da linhagem espermatogênica em diferentes estágios, sem os estágios finais de maturação a espermatozoides).
3. Sertoli cell-only (túbulos seminíferos povoados apenas por células de Sertoli).

É importante salientar que o padrão histológico testicular não é homogêneo. De fato, nos homens azoospérmicos esses padrões histológicos coexistem de forma heterogênea. Uma amostra segmentar aleatória obtida por TESE clássica pode não representar a maioria do parênquima testicular e a correlação entre uma biópsia aleatória e a chance de se isolar espermatozoides torna-se pouco confiável. Dessa forma, entender a heterogeneidade do testículo permite reconhecer como a azoospermia não obstrutiva deve ser tratada⁶⁹.

A descrição da extração de espermatozoides testiculares com auxílio da magnificação cirúrgica (micro-TESE) por Schlegel *et al.* a partir de 1997⁷² permitiu sistematização e aplicação da técnica nos serviços de reprodução humana. O princípio do tratamento se baseia na existência de ilhas de espermatogênese no parênquima testicular dos homens azoospérmicos. Túbulos seminíferos contendo células da linhagem germinativa, e consequentemente espermatozoides, são mais dilatados e opacos que túbulos contendo apenas células de Sertoli. A magnificação cirúrgica permite a localização e extração desses túbulos de forma mais precisa, aumentando a chance de captação espermática e preservando o restante do parênquima⁷².

As taxas de sucesso desses procedimentos dependem da técnica e da população. A revisão sistemática e metanálise de Bernie et al.⁷³ avalia as taxas de sucesso na captação espermática em pacientes com azoospermia não obstrutiva. A taxa de captação de espermatozoides não ajustada na TESE convencional foi de 35 % (95% IC 30-40%; p: 0.028; t2: 0.02 i2 19%) comparada com a micro-TESE de 52% (95% IC 47–58%; t2:0.04; p: 0.027; i2:48%). A taxa de captação de espermatozoides não ajustada na TESE convencional foi de 56 % (95% IC 50-61%; p: 0.02; i2 31%) comparada com a TESA de 28% (95% IC 19–39%; t2:0.27; p<0.01; i2:80%). Dessa forma, a captação de espermatozoides na TESE convencional foi 2.0 vezes mais provável que na TESA, e a captação de espermatozoides na micro-TESE foi 1.5 vezes mais provável que na TESE convencional.⁷³

O sucesso de captação de espermatozoides pode variar também de acordo com o padrão histológico predominante. Na hipoespermatogênese (redução da taxa de túbulos seminíferos com estágios completos até espermatozoides) podem-se ter taxas que variam de 79 a 98%. Na parada de maturação (células da linhagem espermatogênica em diferentes estágios, sem os estágios finais de maturação a espermatozoides) o sucesso varia entre 47 a 94%. Já no padrão de Sertoli-cell only (túbulos seminíferos povoados apenas por células de Sertoli) as taxas podem ser baixas como 5 a 24%^{74,75}. No entanto, essas são taxas podem ter intervalos ainda mais amplos e variados, como revisado por Arshad et al. em 2020: 50 a 100% para hipoespermatogênese, 10.8 a 77% para a parada de maturação e 29 a 60% para Sertoli-cell only.⁷⁶

Embora seja um dado sugestivo de sucesso na captação cirúrgica de espermatozoides, a biópsia testicular diagnóstica não é empregada de rotina, mas apenas em casos e circunstâncias selecionados. Em relação a outros parâmetros preditores, a metanálise de Corona et al.⁷⁷ em 2019 identificou apenas o volume testicular como preditor de sucesso. Volume testicular acima de 12.5 mL foi capaz de prever taxa de sucesso da captação acima de 60% com especificidade de 73% e sensibilidade de 74% respectivamente. Outros dados clínicos como perfil hormonal ou idade não foram preditores. O trabalho confirma ainda a taxa geral de sucesso nos procedimentos em 50%.

1.3.2.1 Micro-TESE e Criptorquidia

Mesmo em pacientes com criptozoospermia a micro-TESE também se mostra um procedimento potencialmente eficaz, com sucesso em 96% dos pacientes na série retrospectiva de Alrabeehan et al.⁶⁸. Nesse estudo, em 87.5% dos 24 pacientes foi necessária apenas realização unilateral do procedimento. O trabalho de Barbotin et al.⁷⁸ avaliou retrospectivamente uma coorte de 225 pacientes com diagnóstico de criptorquidia como causa isolada de azoospermia não-obstrutiva na idade adulta. Os pesquisadores compararam pacientes com histórico de criptorquidia unilateral e bilateral. Foram analisados desfechos cirúrgicos de sucesso na captação de espermatozoides, padrão histopatológico, taxas de fertilização e implantação, além dos desfechos clínicos de taxa cumulativa de gravidez e nascidos vivos. As populações eram homogêneas em termos de idade feminina e reserva ovariana.

A TESE obteve sucesso em 66.2% dos pacientes com criptorquidia bilateral e em 60% dos pacientes com histórico unilateral, sem diferença estatística (p : 0.353). Esse dado sugere um impacto contralateral mesmo em pacientes com quadros unilaterais⁷⁸. A taxa geral de 64% de sucesso é alta se comparada à média de sucesso de TESE ou mesmo de micro-TESE já previamente citada. Importante destacar que a população estudada foi bem específica, com exclusão de outras possíveis causas de azoospermia.

Em relação aos desfechos de reprodução assistida, o grupo de criptorquidia unilateral apresentou maiores taxas de implantação ($p < 0.001$) que o grupo bilateral, embora os desfechos clínicos de taxa cumulativa de gravidez e nascidos vivos não tenha divergido entre os grupos (p : 0.0073 e p : 0.067, respectivamente)⁷⁸.

O padrão histopatológico mais frequente dos pacientes com histórico de criptorquidia bilateral foi Sertoli-cell only, embora a distribuição dos padrões histológicos não tenha sido diferente nas duas populações. No entanto, dentre os pacientes com sucesso na TESE, a maioria tinha o padrão de hipoespermatogênese. Esses pacientes também tiveram correção cirúrgica da criptorquidia mais precocemente, achado compatível com parte da literatura previamente publicada⁷⁸.

O tempo entre a correção cirúrgica da criptorquidia e sucesso na micro-TESE é controverso na literatura. Raman et al. descrevem correlação significativa entre a taxa de captação de espermatozoides e o volume testicular ($p < 0.05$)⁷⁹ e idade da correção da criptorquidia ($p < 0.001$). Pacientes submetidos a orquidopexia antes dos 10 anos tiveram taxas maiores de captação espermática. Wisner et al.⁸⁰, no entanto, não reproduziram a influência da idade de correção da criptorquidia no sucesso da captação espermática. Em seu estudo, os pesquisadores observaram que o volume testicular teve mais influência nas taxas de captação de espermatozoides, mesmo em pacientes com correção antes dos 10 anos. Pacientes com sucesso na captação tinham volumes testiculares maiores (17.0 ± 6.3) em comparação com as captações sem sucesso (10.4 ± 6.3 ml; $p = 0.05$)⁸⁰.

Embora o volume testicular tenha sido descrito como possível preditor de sucesso do procedimento, esse é também um ponto de controvérsia na literatura. Bryson et al.⁸¹ obtiveram sucesso na micro-TESE em 56% dos pacientes com histórico de atrofia testicular. Em seu estudo retrospectivo os pesquisadores incluíram pacientes com diferentes diagnósticos, separados em grupos de acordo com volume testicular ≤ 2 , $> 2 - 10$ ml e > 10 mL. Não houve diferença na taxa de sucesso do procedimento em relação aos grupos, sendo de 55%, 56% e 55% respectivamente. As taxas de gravidez e nascidos vivos entre os pacientes com sucesso na captação também não diferiram. Os pesquisadores não destacam diferenças específicas entre os outros diagnósticos de atrofia testicular, apenas uma tendência favorável a pacientes com Klinefelter e idade menor que 30 anos. Em relação aos pacientes com criptorquidia, observa-se maior proporção de pacientes com volume testicular entre 2 e 10 mL. Entre os pacientes com volumes muito reduzidos, menores que 2 mL, considerando sucesso/insucesso, não houve diferença na distribuição de pacientes com histórico de criptorquidia⁸¹.

Conforme pormenorizado na revisão dos casos descritos na literatura, os pacientes portadores de deficiência de 5ARD2 representam uma heterogênea população em termos de desfecho reprodutivo e modalidades de assistência à reprodução. Isso se deve às diferentes manifestações clínicas da deficiência de

5ARD2 considerando-se status da espermatogênese e parâmetros seminais de volume, concentração espermática, e dinâmica ejaculatória.

1.4 Revisão da literatura em fertilidade e assistência à reprodução nos portadores da deficiência da 5ARD2

Tendo em vista as potenciais barreiras à fertilidade previamente descritas, a paternidade se mantém um desafio aos portadores da síndrome e poucos são os relatos na literatura. As limitações em maturação da linhagem espermatogênica, impostas pela criptorquidia ou pela possível participação da 5ARD2 na função das células de Sertoli, podem se traduzir em oligozoospermia. Por outro lado, as alterações de volume e viscosidade seminal, associadas a disfunções ejaculatórias e anatômicas alteram a dinâmica de deposição seminal essencial à gravidez espontânea.

As modalidades atuais de assistência à reprodução permitiram, ao longo dos anos, a paternidade aos indivíduos portadores. Nos indivíduos com concentração seminal adequada o baixo volume ejaculado e elevada viscosidade seminal podem ser transpostos através do preparo seminal e inseminação intrauterina (IIU). Baixíssimas concentrações de espermatozoides podem permitir a injeção direta do gameta masculino no oócito, na técnica de injeção intracitoplasmática do espermatozoide (ICSI). No entanto, na revisão dos casos descritos na literatura há também descrição de casos com gravidez espontânea, o que indica grande heterogeneidade do impacto da deficiência de 5ARD2 na fertilidade.

Bertelloni et al. publicaram a mais recente revisão da literatura em fertilidade espontânea e assistida em pacientes portadores da deficiência de 5ARD2. Além de relatarem os casos de 2 irmãos afetados, levantaram ainda os casos de paternidade na literatura.⁸² Há descrição de sucesso a partir de técnicas de reprodução assistida como a inseminação intrauterina (IIU) ou

injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), bem como o relato de paternidade após gestação espontânea.

Os dois irmãos do relato de Bertelloni et al.⁸² são portadores da mutação em heterozigose composta *p.Arg103Pro/p.His230Pro*. O diagnóstico de 5ARD2 só foi estabelecido na idade adulta, a partir da assistência à reprodução de um dos irmãos. No entanto, ambos nasceram com atipia genital em hipospádia períneoescrotal pseudovaginal e criptorquidia bilateral corrigidas na infância. Um dos irmãos foi pai de duas meninas, aos 32 e 37 anos após gestação espontânea, sendo as filhas carreadoras da mutação em *p.Arg103Pro* em heterozigose. O irmão afetado foi pai de um menino através de reprodução assistida por meio da técnica de ICSI.

O irmão com paternidade por gestação espontânea recebeu curso de gonadotrofinas exógenas antes da puberdade, no entanto sem duração, dosagem ou esquema terapêutico relatados. O papel desse tratamento é incerto. A hipótese dos autores é uma possível maturação da linhagem germinativa a partir do tratamento hormonal realizado no irmão⁸².

Ivarsson⁸³ publicou o primeiro relato de paternidade em 2 pacientes portadores da deficiência 5ARD2. Em 1988, o autor havia previamente relatado o caso de 3 irmãos suecos⁸⁴. Aos 23 anos, o irmão mais velho, nascido em 1968, foi pai de uma menina por gestação espontânea. Aos 22 anos o irmão mais novo, nascido em 1970, teve o primeiro filho, também por gravidez espontânea. À época do relato da paternidade na coorte, no ano de 1995, esse irmão mais novo e sua esposa esperavam o 2º filho do casal.

Em 1997 Katz et al.⁸⁵ apresentam o segundo relato de paternidade em portadores da síndrome. Os autores descrevem os ciclos de reprodução assistida para 2 gestações de um casal da República Dominicana. O casal tinha treze anos de relacionamento e infertilidade quando iniciaram os ciclos de reprodução assistida. A primeira gestação foi resultado da 3ª tentativa de inseminação intrauterina. A 2ª gestação sucedeu-se a 2 tentativas de inseminação intrauterina.

O paciente em questão tinha 36 anos à época do tratamento de reprodução. O diagnóstico de atipia genital foi realizado ao nascimento, mas

ambos os testículos eram tópicos. Ao exame físico, pênis de 6.5 cm de comprimento e circunferência, e testículo direito com 25 mL e esquerdo com 20 mL. A próstata não era palpável ao exame físico. Do ponto de vista hormonal, tinha testosterona total 669 ng/dL, DHT 10 ng/dL e relação T/DHT de 67. As análises seminais demonstraram importantes alterações no volume e viscosidade seminal. Anatomicamente, as fístulas em uretra peniana e penoescrotal após cirurgia de correção da hipospádia realizadas aos 35 anos dificultavam deposição do sêmen e fertilização espontânea. Levando-se em consideração concentração e motilidade seminais, expostas na Tabela 5, a partir de coletas tanto antes quanto após correção da hipospádia, foi possível realizar a técnica de reprodução assistida por inseminação intrauterina (IIU) com ejaculado coletado a fresco.

Tabela 5 - Análises seminais antes e após correção de hipospádia (Katz et al.⁸⁵)

	Volume (mL)	Concentração (milhões/mL)	Motilidade (%)	Morfologia (% normais)
Antes correção da hipospádia				
1ª coleta	0.2	321	56	71
2ª coleta	0.2	150	61	49
Após correção de hipospádia	0.5	350	55	
1ª Gravidez IIU				
Antes do processamento	0.5	165	33	
Após processamento	0.2	23	80	
2ª Gravidez IIU				
Antes do processamento	0.5	65	66	
Após processamento	0.3	43	93	
Referências (OMS 1992)	> 2	> 20	> 50	>60

Adaptado de Katz et. al 1997 . Processamento: lavagem seguida de centrifugação a 300xG em meio Percoll com 3 concentrações (50, 70 e 90%). Pellet suspenso e novamente duplamente lavado e centrifugado a 300xG.

As limitações de volume e viscosidade seminal, advindas da própria hipoplasia prostática decorrente da deficiência de 5ARD2 e a barreira anatômica à ejaculação foram transpostas por meio da inseminação intrauterina após

preparo seminal. A primeira gestação se seguiu a 3 tentativas de IIU, com desfecho em 33 semanas de um menino, não-afetado com heterozigose C_T em éxon 5. A segunda gestação se seguiu a 2 tentativas de IIU, com desfecho em 32 semanas gêmeos bivitelinos uma menina e um menino, não-afetados e portadores em heterozigose C_T em éxon 5.

Em 2011 Kang et al.⁴⁰ descrevem paternidade após fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática (ICSI) no tratamento de casal. Tratava-se de um paciente de 45 anos, também proveniente da República Dominicana, com 6 irmãos, sendo 2 portadores da mesma mutação *p.R246W/p.R246W* em homozigose, também sem filhos biológicos. O cariótipo era 46,XY e avaliação de microdeleções do cromossomo Y se mostrou negativa.

Na abordagem inicial aos 33 anos, descrevia que a percepção da atipia genital ocorreu ao nascimento, e que os testículos haviam descido durante a adolescência. Ao exame físico apresentava hipospádia períneoescrotal pseudovaginal, com pênis de 5.0 cm de comprimento e circunferência de 6.5 cm. Os testículos se apresentam tópicos, com volume de 14mL à direita e 16mL à esquerda. Perfil hormonal era compatível com os portadores da deficiência de 5ARD2, com testosterona total 699 ng/dL, DHT 24 ng/dL e relação 29. Os procedimentos de adequação genital ocorreram dos 33 aos 43 anos.

O paciente realizou diversas coletas seminais, todas com baixo volume e viscosidade elevada que impediam a análise. O ciclo foi programado apenas quando uma das coletas foi possível de ser analisada e criopreservada, caso a coleta a fresco não fosse bem sucedida. Foi considerada a possibilidade de captação testicular cirúrgica de espermatozoide se os métodos de coleta a fresco e descongelamento não permitissem espermatozoides viáveis.

Tabela 6 - Análises seminais (Kang et al.⁸⁶)

	Volume (mL)	Concentração (milhões/mL)	Motilidade (%)
Amostra criopreservada			
Antes do processamento	0.5	4.5	<1
Após processamento	0.2	8.6	<1
Amostra a fresco			
Antes do processamento	0.5	Elevada viscosidade, avaliação não possível	-
Após processamento	<0.1	8.4	<0.1

Optou-se pela utilização da amostra a fresco. Morfologicamente os espermatozoides apresentavam alterações de cabeça, peça intermediária e inclusões citoplasmáticas.

Nesse caso, a baixa concentração e motilidade seminal motivou a escolha do método ICSI, realizado com sucesso. A taxa de fertilização foi de 44%, transferência de 2 embriões de 8 células em D3 (3º dia de divisão celular) e desfecho de gêmeos, 1 menino e 1 menina, saudáveis, nascidos na 36ª semana de gestação.

Matsubara et al.⁸⁷ em 2010 descrevem outro caso de sucesso de ICSI. Trata-se de um paciente japonês, com genitália atípica ao nascimento, microfalo, testículos retráteis bilateralmente e hipospádia penoescrotal. As intervenções de uretroplastia e orquidopexia realizadas aos 6 aos 9 anos, respectivamente. À época do ciclo de reprodução assistida, tinha padrão hormonal compatível com o diagnóstico: testosterona total 656 ng/dL, DHT 24 ng/dL e relação T/DHT de 24.3; apresentava pênis de 4.5cm e volume do testículo direito e esquerdo simétricos em 10 mL. Avaliação genética com cariótipo 46,XY, sem microdeleções de cromossomo Y e portador de mutação missense homozigota *p.R246Q* no gene SRD5A2 no éxon 5. Essa mutação já foi previamente descrita como mutação hipomórfica^{88,89}. A hipótese é que a atividade residual enzimática pode ter permitido espermatogênese, mesmo que em oligozoospermia.

A ICSI foi realizada com espermatozoide móvel obtido a partir do ejaculado a fresco, coletado com 7 dias de abstinência. A amostra antes do processamento tinha volume de 0,3 ml com concentração 15 milhões de

espermatozoides por mL, com 17% de espermatozoides móveis. O desfecho foi uma gestação a termo em 41 semanas, gerando um menino saudável.

Matsubara ainda discute possíveis influências na espermatogênese dos pacientes, imprevisíveis se levarmos em consideração a heterogeneidade das análises seminais disponíveis na literatura. O autor levanta possível papel da atividade residual enzimática e da criptorquidia na espermatogênese, embora em relação à criptorquidia não considere o momento em que foi corrigida. Outra discussão é em relação a portadores de mutações hipomórficas missense em homozigose ou em heterozigose composta são aqueles com descrições de análise seminal e paternidade. Não há relato de espermatogênese ou paternidade em pacientes portadores de mutações mais graves como as nonsense⁸⁷.

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo revisar os dados relativos às avaliações clínicas, potencial reprodutivo e assistência à reprodução e seus respectivos desfechos nos indivíduos portadores de deficiência de 5ARD2, no HCFMUSP e na literatura.

3. MÉTODOS E PACIENTES

O estudo se desenvolveu em caráter retrospectivo em pacientes da coorte de deficiência de 5ARD2 acompanhados no ambulatório de Endocrinologia do Desenvolvimento Sexual da Divisão de Endocrinologia do HCFMUSP, submetidos à reprodução humana assistida. Foi submetido a apreciação e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do HCFMUSP (parecer 4.361.078). Foi realizado um levantamento retrospectivo dos dados disponíveis em prontuário: idade, fatores demográficos, cronologia de procedimentos cirúrgicos e tratamentos hormonais realizados com complicações associadas e descrição dos ciclos de reprodução assistida e desfechos. Mantém-se o caráter sigiloso das identidades dos pacientes durante toda a descrição do presente estudo.

Os pacientes que manifestaram desejo reprodutivo de 2016 a 2018 descritos neste estudo realizaram o acompanhamento e tratamento no Centro de Reprodução Humana (CRH) do HCFMUSP, em conjunto com a esposa, e de acordo com protocolo de avaliação e tratamento da instituição. Toda a avaliação andrológica clínica do paciente foi realizada no Ambulatório de Urologia/Andrologia do Centro de Reprodução Humana Governador Mário Covas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). A avaliação e seguimento da esposa foram realizados pela equipe de Ginecologia do CRH.

São também descritos 2 ciclos de reprodução assistida de pacientes portadores de DDS 46,XY, também acompanhados pela equipe de Endocrinologia do HCFMUSP, que foram realizados na Huntington Medicina Reprodutiva no período de 1999 a 2006.

A análise laboratorial hormonal foi realizada no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/ 42 da Disciplina de Endocrinologia do HCFMUSP. A avaliação anatomopatológica dos fragmentos de biópsia testicular diagnóstica e pós-operatória foi realizada no laboratório da divisão de Anatomia Patológica do HCFMUSP, bem como o registro fotográfico das lâminas.

O levantamento da literatura foi realizado no período de elaboração do projeto, com revisão durante a descrição dos resultados, abrangendo publicações de 1961 a 2021 pesquisadas nas plataformas PubMed e Embase com os termos: “5 α -reductase-2 deficiency”, “46,XY Differences of sexual differentiation (DSD)”, “Disorders of sexual differentiation (DSD)”, “pseudovaginal perineoscrotal hypospadias”, “fertility”, “paternity”, “semen analysis”, “assisted reproduction”.

4. DESCRIÇÃO DOS CASOS

Paciente 1

Encaminhado do ambulatório de Endocrinologia para avaliação no CRH. A percepção de atipia genital foi realizada aos 8 anos, sendo a deficiência de 5ARD2 determinada aos 12 anos. Aos 18 anos ainda não tinha realizado intervenções genitais, apresentando orifício perineal único, hipospádia perineal e escroto bífido e testículos inguinais. O pênis media 8.0 x 2.5cm, com testículo direito medindo 4 x 2.8cm e testículo esquerdo medindo 3.5 x 2.4cm. Exames laboratoriais são típicos, ao diagnóstico e aos 29 anos, sumarizados na Tabela 7. Propedêutica genética constituída por Cariótipo 46, XY e mutação no *SARD2*: *p.Gln126Arg/ p.Gln126Arg*.

Os procedimentos de adequação genital foram realizados aos 24 anos. Na ocasião a ressonância magnética não identificou a próstata, sendo as vesículas seminais e ductos deferentes presentes, com aspecto habitual. Os testículos situavam-se nos canais inguinais. O 1º tempo foi a ortofaloplastia com retalho de Byars e ressecção do seio urogenital com fechamento local. Aos 25 anos, foi realizada orquidopexia e neouretroplastia com mucosa oral, essa realizada em 2 tempos.

À época do início da avaliação no CRH tinha 10 anos de relacionamento com a esposa, com 5 anos de infertilidade conjugal primária. Apresentavam vida sexual ativa, com média de 1 relação por semana. O paciente descrevia ereção satisfatória e ejaculação com orgasmo. Ao exame físico apresentava redução volumétrica testicular, ambos medindo aproximadamente 8mL. O testículo esquerdo estava localizado em canal inguinal esquerdo. Ambos os deferentes eram palpáveis e o orifício uretral em hipospádia distal. Ultrassonografia na ocasião demonstrava testículos direito e esquerdo de 9mL, sendo o testículo esquerdo localizado em canal inguinal.

Tabela 7 - Exames laboratoriais do paciente 1

Ao diagnóstico (12 anos)		
Exame	Resultado	Referência
FSH	1.7 IU/L	1,5 a 12,4 IU/L
LH	1.7 IU/L	1,7 a 8,6 IU/L
Testosterona total	179 ng/dL	20 a 49 anos: 249 a 836 ng/dL
DHT	1.5 ng/dL	(25-100 ng/dL)
Relação Testosterona/DHT	119	< 10
Aos 30 anos		
FSH	19.9	1,5 a 12,4 IU/L
LH	11.4 IU/L	1,7 a 8,6 IU/L
Testosterona total	918 ng/dL	249 a 836 ng/dL
Estradiol	34 pg/mL	25,8 a 60,7 pg/mL

Tabela 8 - Análises seminais do paciente 1

Idade anos	Volume (mL)	pH	Concentração	Endtz
27	0.2	6.5	Raros imóveis	Positivo (leucócitos > 1milhao/mL)
29	0.05	9.5	Raros não progressivos	
29	0.18	9.0	Raros não progressivos e imóveis	Positivo (leucócitos > 1milhao/mL)
29	0.2	8.8	Raríssimos imóveis	-

Tratamento instituído

O paciente apresentava amostras seminais com típico volume reduzido e elevada viscosidade. Foram realizadas múltiplas coletas seminais com intuito de criopreservação antes do ciclo, à semelhança do caso de Kang et al., o que não foi possível devido às baixíssimas contrações e motilidade espermática inadequada. Nas oportunidades em que se apresentou com Endtz positivo, teste indicativo da presença de mais de 1 milhão de leucócitos por mL de sêmen e possibilidade de infecção, foram realizados tratamentos empíricos com ciprofloxacino, 500mg, BID, inicialmente por 10 dias. Na segunda amostra com Endtz positivo foi realizado curso de ciprofloxacino 500mg duas vezes ao dia por 10 dias associado a doxiciclina 100mg duas vezes ao dia por 7 dias. Essa conduta se justifica também pelo relato da bióloga de odor característico de urina nas amostras de sêmen, que pode corresponder a alteração da dinâmica ejaculatória.

A esposa foi avaliada pela equipe de Ginecologia no CRH. À época da avaliação tinha 33 anos, sem filhos de outros relacionamentos. Os ciclos eram regulares de 28 dias de intervalo e duração de 3 dias.

Diante das baixíssimas concentrações seminais e padrão de motilidade foi proposta a realização de micro-TESE, que é opção terapêutica nos casos de azoospermia e criptozoospermia. Uma vez que havia presença de espermatozoides no ejaculado previamente, a opção foi realização do procedimento junto ao ciclo da esposa. O paciente foi submetido ao procedimento sob anestesia geral, realizado na sala cirúrgica conjugada ao laboratório de embriologia, com análise do material em tempo real pela equipe de biólogos. Padrão macroscópico e microscópico de atrofia dos túbulos seminíferos, de coloração parda-acastanhada, bilateralmente. A mobilização do testículo esquerdo foi muito dificultada por sua posição inguinal.

Não houve sucesso na captação de espermatozoides, não tendo sido encontrados gametas mesmo após processamento das amostras cirúrgicas pelo laboratório de embriologia. Figuras 3 e 4 e Quadro 1 demonstram padrão histológico encontrado.

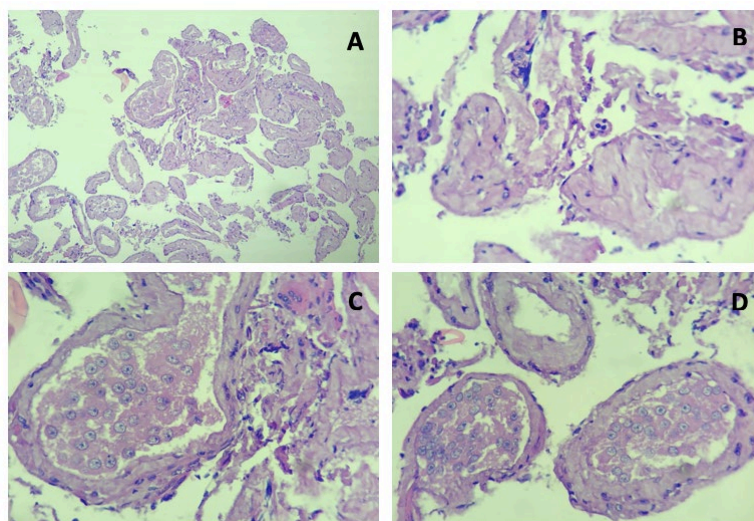


Figura 3 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 1

A: Aumento: 100x; importante espessamento membrana basal; redução da população de células germinativas e células de Sertoli

B: Aumento de 400x. Detalhe da hialinização dos túbulos seminíferos e ausência de células germinativas

C: Aumento de 400x. Espessamento da membrana basal, túbulo com Sertoli-cell only (células intratubulares com nucléolo evidente)

D: Aumento de 400x Túbulos com Sertoli-cell only (nucléolo evidente)

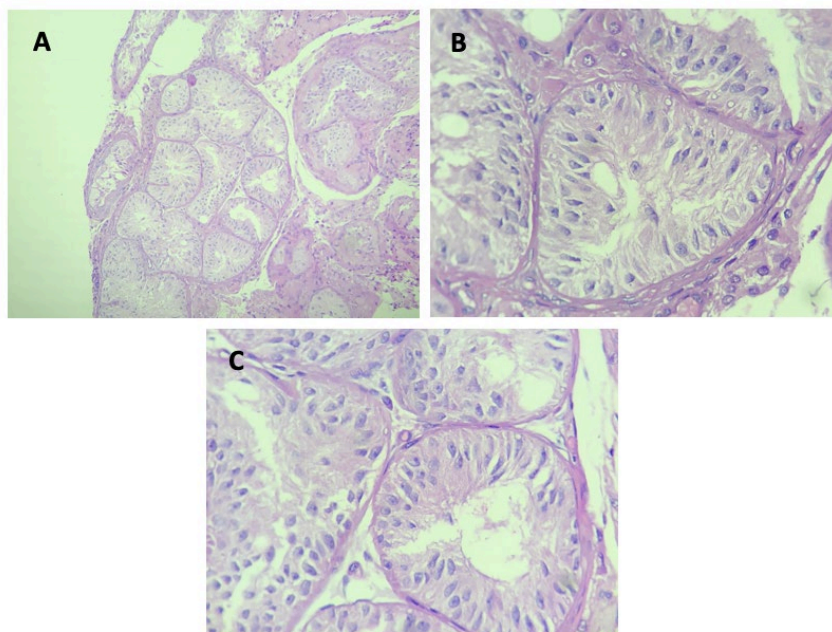


Figura 4 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 1

A: Aumento de 100x. Túbulos com Sertoli-cell only (células de citoplasma claro e nucléolo evidente)

B: Aumento de 400x.Detalhe dos túbulos com Sertoli-cell only

C: Aumento de 400x.Detalhe dos túbulos com Sertoli-cell only

Quadro 1 - Laudo anatomopatológico de material proveniente de micro-TESE de tratamento do paciente 1

Aos 30 anos
Testículo direito

Atrofia tubular moderada, com esclerose total e hialinização em 50% dos túbulos. Espessamento leve da camada basal. Redução da população de células germinativas globalmente. Infiltrado inflamatório leve no interstício.

Testículo esquerdo

Focos de atrofia tubular com esclerose total e hialinização em 5% dos túbulos. Espessamento leve da camada basal. Redução da população de células germinativas globalmente. Infiltrado inflamatório leve no interstício. Agregados de células de Leydig no estroma.

Paciente 2

Paciente encaminhado do ambulatório de Endocrinologia do HCFMUSP para avaliação do CRH. O diagnóstico de atipia genital realizado ao nascimento, com determinação de deficiência de 5ARD2 e cirurgias de adequação genital aos 9 anos. Na ocasião, o pênis media 2x1cm, com orifício perineal único hipospádico, escroto bífido e gônadas retráteis inguinais. O cariótipo foi definido em 46,XY e mutação no gene *SARD2*: *p.Gli183Ser/p.Gli183Ser*. Demais exames laboratoriais aos 36 anos demonstrados na Tabela 9.

A primeira fase cirúrgica foi realizada aos 9 anos, com ortofaloplastia e correção escroto bífido, neouretroplastia posterior e ressecção de restos mullerianos (terço distal da vagina em fundo cego/colpectomia). Aos 10 anos realizou-se a 2ª fase cirúrgica, com neouretroplastia distal e orquidopexia.

À época de avaliação no CRH o casal tinha 11 anos de relacionamento com a esposa e 5 anos de infertilidade conjugal. Apresentavam vida sexual ativa, com média de 1 relação por semana. O paciente descrevia ereções satisfatórias, com penetração e orgasmo, mas sem ejaculação. Ao exame apresentava testículos tópicos de dimensões preservadas, com diâmetros longitudinal e transversal: 5x3cm e 5x2.8 cm à direita e à esquerda, respectivamente.

Na propedêutica no CRH temos painel hormonal característico da deficiência de 5ARD2, com relação T/DHT de 93. A possibilidade de ejaculação retrógrada foi descartada pela pesquisa de espermatozoides na urina, que se mostrou negativa.

Tabela 9 - Exames laboratoriais do paciente 2 (36 anos)

Exame	Resultado	Referência
FSH	8.8 IU/L	1,5 a 12,4 IU/L
LH	6.1 IU/L	1,7 a 8,6 IU/L
Testosterona total	559 ng/dL	20 a 49 anos: 249 a 836 ng/dL
DHT	6 ng/dL	(25-100 ng/dL)
Relação Testosterona/DHT	93	< 10

Tratamento instituído

Para a realização da assistência à reprodução ao casal no CRH com gametas próprios há a necessidade de se estimar a possibilidade de sucesso de captação de espermatozoides nos pacientes azoospérmicos. Prosseguiu-se a exploração cirúrgica testicular com biópsia testicular bilateral. A avaliação histológica demonstrou espermatogênese reduzida na biópsia em macroscopia e presença de espermatócitos na biópsia com magnificação cirúrgica. Imagens correspondentes nas figuras 5 e 6. Os parâmetros histológicos estão transcritos no Quadro 2.

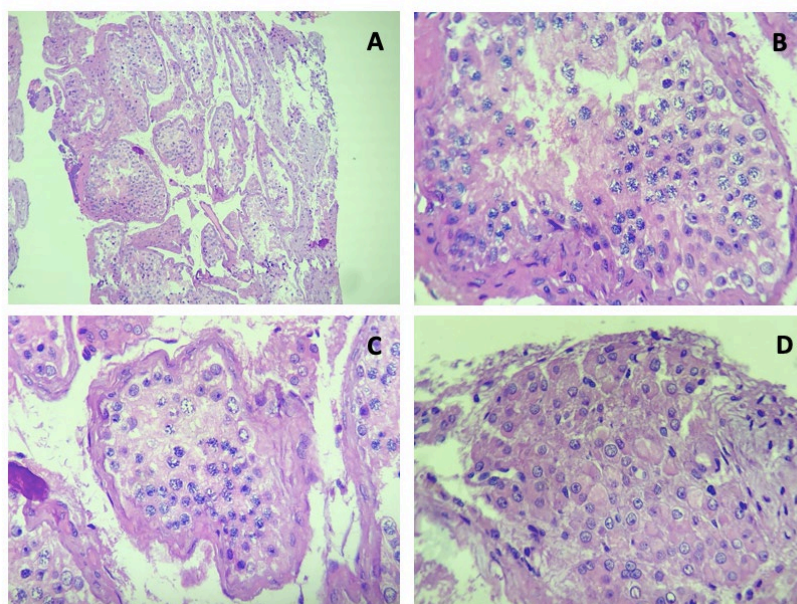


Figura 5 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 2
A: Aumento de 100x. População moderada de células germinativas (espermatogônias e espermatócitos)
Espessamento de membrana basal
B: Aumento de 400x Espermatócitos em meiose. Leve espessamento de membrana basal
C: Aumento de 400x Detalhe dos espermatócitos em meiose. Leve espessamento de membrana basal
D: Aumento de 400x. No canto superior direito: células de Leydig e cristais de testosterona

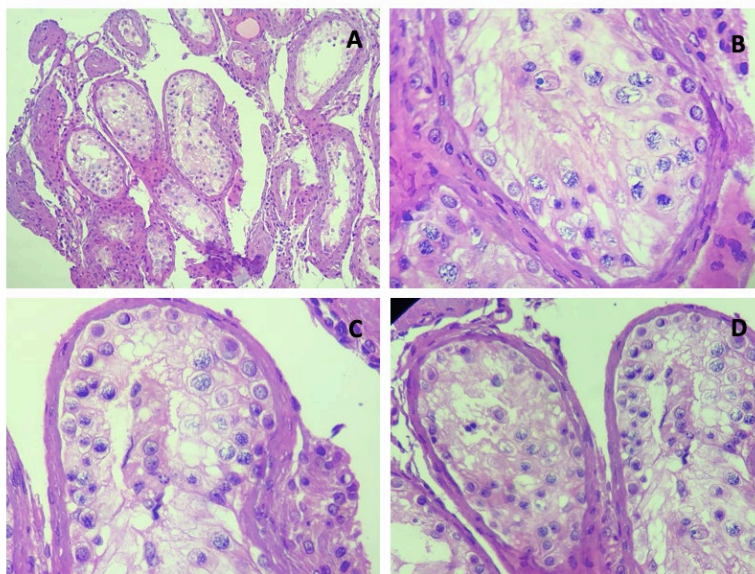


Figura 6 - Lâminas histológicas em parafina e coloração em HE (Hematoxilina+Eosina) do paciente 2
 A: Aumento de 100x. Hialinização túbulos com espessamento de membrana basal, redução da população de células germinativas
 B: Aumento de 400x. Redução de células germinativas. Espermatócitos em meiose
 C: Aumento de 400x. Detalhe: células de Sertoli, Espermatogônias e Espermatócitos
 D: Aumento de 400x. Raras espermatídes

Quadro 2 - Laudos anátomo-patológicos: biópsias diagnósticas exploratórias do paciente 2 (35 anos)

Biópsia incisional bilateral macroscópica

Testículo direito

Parênquima testicular atrófico, com rarefação de túbulos seminíferos, espessamento da membrana basal, hialinização intersticial, fibrose estromal. Diminuição da espermatogênese e ausência de espermiogênese. Ausência de malignidade.

Testículo esquerdo

Parênquima testicular atrófico, com rarefação de túbulos seminíferos, espessamento da membrana basal, hialinização intersticial, fibrose estromal. Diminuição da espermatogênese e ausência de espermiogênese. Ausência de malignidade

Biópsia incisional esquerda com magnificação por microscopia cirúrgica.

Testículo esquerdo

Biópsia representativa de tecido testicular com túbulo seminífero arquiteturalmente preservado, estroma composto por células de Leydig, sem particularidades histológicas e cada túbulo é composto por: células de Sertoli sem alterações de número. Espermatócitos em número significativamente reduzido.

Considerando a heterogeneidade do parênquima testicular, a proposta foi realização de micro-TESE para aumentar a possibilidade de captação de espermatozoides. Durante o ciclo de tratamento e estímulo da esposa, o paciente foi então submetido ao procedimento, realizado sob anestesia geral, em sala cirúrgica conjugada no CRH, com análise do material

em tempo real pela equipe de biólogos. Houve sucesso na captação de espermatozoides para fertilização pela técnica de ICSI, sendo fertilizados 5 oócitos maduros (M2) com espermatozoides imóveis. 3 foram potencialmente fertilizados, conforme 2 PN (pró-núcleo) e 2 CP (corpúsculos polares) nas primeiras 24h. No entanto, não houve progressão do desenvolvimento embrionário nos dias subsequentes, conforme Tabela 10.

Tabela 10 - Evolução dos embriões do paciente 2

	1	2	3	4	5
Oócitos					
Maturação	MII	MII	MII	MII	MII
Fertilização	2PN (Irregular)	1CP	DEG	2CP	2CP
48h	NC	1CP	-	2CP	2CP
72h	NC	1CP	-	2CP	2CP

M2: maturação oócito NC: não-clivado PN: pró-núcleo CP: corpúsculos polares

Paciente 3

Já previamente mencionado na literatura por Costa et al.⁷ Pertence a uma família com outros 2 irmãos afetados. A percepção da atipia genital foi aos 7 anos, com diagnóstico da deficiência de 5ARD2 aos 9 anos. Submetido a intervenções para adequação genital dos 14 aos 17 anos, em outro serviço.

Em avaliação aos 21 anos o paciente apresentava pênis de 5.3 x 1.7 cm; testículo direito de 4.5 x 2.2 cm e testículo esquerdo medindo 4.2 x 2.0 cm. Exames complementares demonstravam à ultrassonografia uma próstata de contornos regulares medindo 4,0 x 2.9 x 2.8 cm, vesículas seminais de contorno e ecotextura preservados. Aos 29 anos, ressonância de pelve próstata de dimensões normais, corpos cavernosos e testículos tópicos.

Avaliação citogenética demonstrava cariótipo 46,XY. A mutação correspondente a deficiência de 5ARD2 é *p.Gln126Arg/p.Asn193Ser*. Demais exames complementares na Tabela 11 e análises seminais na Tabela 12.

Tabela 11 - Exames laboratoriais do paciente 3 (22 anos)

Exame	Resultado	Referência
FSH	13.1 IU/L	1,5 a 12,4 IU/L
LH	16.9 IU/L	1,7 a 8,6 IU/L
Testosterona total	340 ng/dL	20 a 49 anos: 249 a 836 ng/dL
DHT	26 ng/dL	(25-100 ng/dL)
Relação Testosterona/DHT	12.6	< 10

Tabela 12 - Análises seminais do paciente 3

Data	Volume (mL)	pH	Viscosidade	Concentração	Motilidade	Observação
22 anos	<0.5	8.0	Normal	Raros por campo	Imóveis	Numerosos leucócitos e células epiteliais
22 anos	0.3		Aumentada	20 milhões/mL	20% móveis 60% imóveis 20% mortos (sic)	
27 anos	0.2	9.5		120 milhões/mL	17% móveis 83% imóveis	
27 anos	0.2	9.0		81 milhões/mL		

Tratamento instituído

Ciclo de reprodução assistida aos 34 anos

A avaliação seminal à época do ciclo mostrava baixo volume ejaculado, com baixa concentração de espermatozoides, mas com 33% de espermatozoides móveis (Tabela 13). A esposa tinha 26 anos à época de indução do ciclo. Aspiração realizada no 12º dia de indução, um total de 11 oócitos. Foram injetados com espermatozoides móveis provenientes do ejaculado após processamento, pela técnica de ICSI. No 5º dia de desenvolvimento embrionário foram transferidos 2 blastocistos, e 3 blastocistos foram criopreservados. A transferência embrionária dos dois blastocistos resultou em gestação gemelar de 2 crianças não afetadas.

Tabela 13 - Espermograma do paciente 3 à época do ciclo de reprodução assistida

34 anos	Volume (mL)	Concentração	Motilidade
Espermograma	0.5	60.000/mL	33% móveis
Pós preparo (wash)	0.2	190.000/mL	21% móveis

Paciente 4

Já previamente mencionado na literatura por Costa et al.⁷ Pertence a uma família com outros 2 irmãos afetados. A percepção da atipia genital foi aos 7 anos, com diagnóstico da deficiência de 5ARD2 aos 9 anos. Submetido a intervenções para adequação genital aos 15 anos.

No acompanhamento ambulatorial descrevia masturbação com orgasmo, ocasionalmente sem ejaculação. Quando descreve ejaculação, referia pequeno volume. Iniciou relações sexuais aos 18 anos.

Aos 15 anos o paciente apresentava testículo esquerdo de 3.0x 1.6 cm e testículo direito 2.5 x1.5 cm, em posição inguinal. O pênis media 5.4 x 1.6 cm, e havia a presença de 2 orifícios perineais: uretra hipospádica e um pequeno canal em fundo cego. Propedêutica complementar com ultrassonografia identificou próstata presente e testículos inguinais em bolsa bífida. A uretrocistografia miccional descreveu seio urogenital e pequena vagina em fundo cego.

Nessa mesma idade foi submetido ao primeiro tempo de ortofaloplastia (Byars), com neouretroplastia proximal, escrotoplastia e ressecção de seio urogenital (ressecção de vagina em fundo cego/colpectomia). Realizada ortofaloplastia com uretra perineal, mantendo-se escroto bífido. No 2º tempo cirúrgico realizou-se neouretroplastia distal com orquidopexia e escrotoplastia.

Avaliação genética demonstrava cariótipo 46,XY. A mutação causadora da deficiência de 5ARD2 é a mesma do irmão: *p.Gln126Arg/p.Asn193Ser*. A amostra seminal da instituição identificou azoospermia mesmo após centrifugação e análise do pellet, em uma amostra seminal com 0.5 ml e elevada viscosidade. Demais exames complementares na Tabela 14.

Tabela 14 - Exames laboratoriais do paciente 4

Ao 15 anos		
Exame	Resultado	Referência
FSH	3.6 IU/L	1,5 a 12,4 IU/L
LH	4.0 IU/L	1,7 a 8,6 IU/L
Testosterona total	645 ng/dL	20 a 49 anos: 249 a 836 ng/dL
Aos 22 anos		
FSH	4.4 UI/L	1,5 a 12,4 IU/L
LH	3.8 IU/L	1,7 a 8,6 IU/L
Testosterona total	551 ng/dL	249 a 836 ng/dL
DHT	33.8 ng/dL	25 – 100 ng/dL
Relação T/DHT	16.4	

Tratamento instituído

Ciclo de reprodução assistida em 2001

Foi realizado ciclo de reprodução assistida em 2001. Apesar do registro anterior de amostras seminais com azoospermia, foram obtidos espermatozoides imóveis em número muito reduzido, provenientes de 2 amostras de ejaculado no dia da aspiração folicular. A esposa tinha 26 anos à época de indução do ciclo. Um total de 43 oócitos foram aspirados, sendo 17 submetidos a ICSI com espermatozoides (o total de espermatozoides disponíveis) previamente submetidos a teste hiposmótico para vitalidade. Um total de 8 oócitos foram fertilizados. Após transferência embrionária, seguiu-se gestação única, 1 filho saudável.

5. DISCUSSÃO

Indivíduos com deficiência de 5ARD2 manifestam barreiras para a fertilidade relacionadas a múltiplos aspectos, como o desenvolvimento gonadal, procedimentos cirúrgicos e diferenças anatômicas. Essas alterações refletem a pluralidade de fenótipos da síndrome, tanto do ponto de vista anatômico quanto funcional. Especificamente em relação a parâmetros seminais, os estudos destacam uma população heterogênea em termos de concentração seminal, embora sejam muito importantes os diferentes históricos de adequação cirúrgica da genitália e posicionamento dos testículos.

O estudo de Cai et al.⁴⁰ é uma descrição detalhada dos parâmetros seminais, hormonais e anátomo-patológicos de uma série de pacientes com deficiência de 5ARD2, inclusive com análises pré e pós operatórias. Além de destacar como os pacientes se diferem entre si, o estudo descreve que mesmo em pacientes com correção tardia da genitália, pode haver melhora dos parâmetros seminais. Um dos pacientes, azoospérmico antes da correção cirúrgica, passou a ejacular espermatozoides no pós-operatório, mesmo que em baixa concentração. A abordagem da atipia genital teria, portanto, a possibilidade de mudar o potencial reprodutivo do paciente, embora a presença de espermatozoides possa estar relacionada ao status da posição dos testículos.

O contínuo desenvolver das técnicas de reprodução humana permitiu que esses pacientes fossem também assistidos em diferentes níveis de complexidade. O preparo seminal e a técnica de inseminação intrauterina possibilitam o tratamento de pacientes com concentração de espermatozoides adequada, mas que apresentam elevada viscosidade seminal e reduzido volume ejaculatório.³⁹ A injeção direta do gameta masculino no oócito, na técnica de injeção intracitoplasmática do espermatozoide (ICSI), passou a tratar indivíduos com baixíssimas concentrações de espermatozoides e que antes não seriam candidatos a reprodução assistida com gametas próprios.^{7,86,87} Mais recentemente, essa é uma possibilidade também para pacientes azoospérmicos, através do uso da técnica de captação de espermatozoides testiculares auxiliada

por microscopia cirúrgica, aqui utilizadas pela primeira vez em 2 pacientes portadores da deficiência de 5ARD2.

A revisão da literatura, conforme sumarizada na Tabela 15, acerca da fertilidade na síndrome de deficiência de 5ARD2 destaca a pluralidade de quadros clínicos e modalidade de tratamentos, embora poucos sejam os casos de paternidade descritos. Há relato de irmãos afetados da Suécia que se tornaram pais por gestação espontânea.⁸³ Outros pacientes foram submetidos aos tratamentos de IIU ou ICSI com sucesso, a depender dos parâmetros seminais.^{7,39,86,87} As últimas descrições de tentativas de tratamentos em reprodução assistida, que estão relatados pela primeira vez nesta dissertação, utilizaram a técnica de microdissecção testicular na captação de espermatozoides.

Tabela 15 - Fertilidade e assistência à reprodução dos pacientes portadores de deficiência de 5ARD2

Referência	Mutação SARD2	CO	VTM (mL)	LH, UI/L	FSH, UI/L	T, ng/dL	DHT, ng/dL	T/DHT	Vol.	Conc. (10 ⁶ /mL)	Tot al (x 10 ⁶)	M(%)	Mo	Idade	Método	Resultado gravidez	
1*	Ivarsson (1996)	p.Gli196Ser/p.His23 1Arg	Palpáveis (lábio escrotais)	917 ^a	19 ^b	48	23	Natural	Menina	
2*	Ivarsson (1996)	p.Gli196Ser/p.His23 1Arg	Não palpável	271 ^c	22	Natural	Menino	
3	Katz et al. (1997)	p.Arg246Trp/p.Arg24 6Trp	Tópicos ao nascimento	22.5	669	9.8	68.2	0.5*	65	36	IIU 1	Menino	
4	Matsubara et al. (2010)	p.Arg246Gln/Arg246 Gln	Sx 9 anos	10.0	2.1	7.0	660	26	25	0.3	15	4.5	17	8	29	ICSI	Menino
5	Kang et al. (2011)	p.Arg246Trp/p.Arg24 6Trp	Tópicos na puberdade	15.0	669	23	29	<0.1 [§]	8.4	< 1.0	...	45	ICSI	Gêmeos	
6**	Costa et al. (2012)	p.Gln126Arg/p.Asn1 93Ser	Sx 14-17 anos	4.4	16.9	13.1	340	26	12	0.5	0.19	0.09	21	...	34	ICSI	Gêmeos
7**	Costa et al. (2012)	p.Gln126Arg/p.Asn1 93Ser	Sx 15 anos	9.8	4.4	3.8	551	33.8	16	ND	#	30	ICSI	Menino	
8***	Bertelloni et al. (2019)	p.Arg103Pro/p.His23 0Pro	Sx Nascimento	12.5	6.4	25.8	320	32	Natural	2 meninas	
9***	Bertelloni et al. (2019)	p.Arg103Pro/p.His23 0Pro	Sx Nascimento	ICSI	Menino	
10	Presente estudo	p.Gli183Ser/ p.Gli183Ser	Sx 10 anos	15	6.1	8.8	559	6	93	∅	-	-	-	38	Falha ICSI após micro-TESE	-	
11	Presente estudo	p.Gln126Arg/ p.Gln126Arg	Sx 25 anos	8	11.4	19.9	980	0.2	§	-	-	29	Ausência de espermatozoides micro-TESE	-	

CO: Sx(cirurgia): idade correção criptorquidia (pacientes 4, 6, 7, 8, 9, 10 e 11) /posicionamento testículos (pacientes 1, 2, 3 e 5) VTM: volume testicular médio Mo: morfologia M: motilidade Conc.: concentração ^a aos 14 anos ^b aos 10 anos ^c aos 36 anos * Pacientes 1 e 2 irmãos **Pacientes 6 e 7 irmãos *** Pacientes 8 e 9 são irmãos[§] Após processamento # raríssimos espermatozoides móveis no ejaculado a fresco, selecionados 17 espermatozoides para ICSI ∅ anejaculação, pesquisa de espermatozoides na urina negativa § raríssimos espermatozoides imóveis

Observamos na Tabela 15 que volume testicular médio dos pacientes é variável, e que o paciente 3, com sucesso da IIU em 2 oportunidades, possuía volume testicular médio maior e maior concentração de espermatozoides. Pacientes com menores volumes testiculares apresentavam também menores concentrações espermáticas, embora assistidos com sucesso pela técnica de ICSI.

A criptorquidia é de fato um ponto essencial na avaliação dos relatos de paternidade, ou mesmo quando considerados os casos assistidos nessa instituição. É importante salientar que a criptorquidia é também muito heterogênea, com fisiopatologia e vias de alteração e influência na fertilidade masculina ainda em elucidação.^{42,46} Existem evidências disponíveis que apontam para potencial influência do tempo de correção da criptorquidia no impacto em fertilidade, embora outros estudos não tenham encontrado essa correlação.^{58,60}

Apesar da controvérsia em torno desse aspecto, os casos relatados na literatura com sucesso em reprodução assistida tinham testículos tópicos ao nascimento, descida espontânea dos testículos a posição tópica, ou mesmo correção ainda na infância.^{39,82,86,87} São os casos dos pacientes 3, 4, 5, 8 e 9 (Tabela 15). Os pacientes 1 e 2 (Tabela 15), com paternidade espontânea, fogem dessa observação, uma vez que um dos irmãos não tinha testículos palpáveis ao nascimento. Ao considerarmos os casos descritos do HCFMUSP, a realidade é distinta. Os dois casos de assistência no HCFMUSP com sucesso em 1999 e 2006 (pacientes 6 e 7 da Tabela 15) tiveram criptorquidia corrigida aos 14 e aos 15 anos respectivamente. Apesar de irmãos e portadores da mesma mutação, e correção da criptorquidia em idades semelhantes, tinham análises seminais de base muito distintas. O paciente 7 da Tabela 15 era azoospérmico na análise inicial. No entanto, no dia da captação da esposa, foi possível identificar e utilizar espermatozoides do ejaculado à fresco. A assistência à reprodução dos irmãos se deu pela mesma técnica de ICSI, evolução da técnica de fertilização in vitro que permite tratamento no caso de raros espermatozoides. Sem a utilização dessa técnica não teria sido possível a

assistência a esses pacientes, ambos com concentração espermática muito baixa.

Dentre os casos mais recentes nessa instituição, identificados como 10 e 11 na Tabela 15, as correções de criptorquidia e adequação da genitália se deram aos 9 e aos 25 anos. Há semelhanças histológicas entre os pacientes, marcadamente a hialinização tubular e alteração da membrana basal, além da alteração da linhagem germinativa. No entanto, o paciente 11 (Tabela 15), com correção mais tardia da criptorquidia, apresenta repercussão tecidual mais grave, o que provavelmente se traduziu em insucesso da captação testicular. Observam-se extensas áreas de túbulos contendo apenas células de Sertoli (Sertoli cell-only). O paciente 10 (Tabela 15), embora com redução da população de células germinativas e alterações estruturais dos microtúbulos, apresentava células da linhagem germinativa com progressão até espermatócitos em alguns cortes histológicos. O padrão histológico tem ampla variação na literatura como fator de sucesso na captação de espermatozoides, no entanto é consenso que a parada de maturação, caso do paciente 11 (Tabela 15), tem melhor prognóstico em termos de sucesso na captação de espermatozoides por micro-TESE do que o padrão Sertoli cell-only, padrão do paciente 11 (Tabela 15), o que de fato ocorreu.

A opção pela tentativa de tratamento com ICSI após micro-TESE foi distinta nos pacientes de assistência recente. No entanto, indicou-se a abordagem cirúrgica considerando-se a grande heterogeneidade do parênquima testicular, com presença de diferentes fases e “ilhas” de espermatogênese.⁷² Considerou-se também o sucesso prévio de outras séries mesmo em pacientes com histórico de criptorquidia ou reduzido volume testicular.^{78,81}

O paciente 11 (Tabela 15) apresentava raríssimos espermatozoides imóveis no ejaculado, o que inviabilizava a criopreservação e a utilização em uma coleta a fresco. As amostras eram também repetidamente associadas a sinais inflamatórios/infecciosos. Foi optado pela micro-TESE terapêutica e diagnóstica, onde havia possibilidade tanto de captação de espermatozoides quanto de diagnóstico histológico. No pré-operatório o volume testicular poderia ser considerado como possível preditor de menor sucesso do procedimento, embora a literatura seja controversa em relação ao volume testicular como fator

determinante. O padrão histológico em Sertoli cell-only, confirmado após o procedimento, é também o mais desfavorável, o que se repetiu. O paciente 10 (Tabela 15), azoospérmico, foi submetido biópsia diagnóstica previamente à micro-TESE, pelos motivos já expostos. O padrão histológico um mais favorável se confirmou com sucesso na captação espermática, apesar do insucesso no desenvolvimento embrionário subsequente à ICSI.

A opção pela tentativa de tratamento com ICSI após micro-TESE em pacientes com deficiência de 5ARD2 é inédita na literatura, e apesar dos resultados negativos aqui levantados, destaca-se a possibilidade de tratamento dos pacientes por essa técnica. Tendo em vista a revisão da literatura e os casos descritos, é evidente a grande importância da abordagem do tema fertilidade e considerações em relação a assistência a reprodução no contexto de seguimento dos pacientes portadores da deficiência de 5ARD2. Nos relatos de casos da instituição HCFMUSP temos uma amostra da diversidade de fenótipos da síndrome e de seus tratamentos. Temos que considerar a possibilidade de diferença no tempo de abordagem em adequação da genitália externa e orquidopexia como fator de impacto no potencial reprodutivo dos pacientes.

6. CONCLUSÕES

O desejo de paternidade e aspectos relacionados à fertilidade são muito importantes aos indivíduos portadores de 46,XY DDS e a assistência integral a esses pacientes deve incluir a abordagem do tema.

A deficiência da 5 alfa redutase é uma das poucas causas de DDS 46,XY nas quais a fertilidade é possível.

A revisão da literatura neste tópico revela uma expressiva heterogeneidade de possibilidades relacionadas não só ao potencial reprodutivo, mas também às opções terapêuticas a esses indivíduos. Em consonância com observações já apontadas na literatura, a correção precoce da criptorquidia e alterações uretrais estão entre as estratégias para prevenção de alterações na espermatogênese e fertilidade dos pacientes.

A utilização da técnica cirúrgica de captação de espermatozoides por meio da microdissecção testicular em pacientes com deficiência de 5ARD2 é inédita na literatura e pode integrar o arsenal terapêutico aos pacientes.

7. REFERÊNCIAS

1. Wisniewski AB, Batista RL, Costa EMF, et al. Management of 46,XY Differences/Disorders of Sex Development (DSD) Throughout Life. *Endocr Rev.* 2019;40(6):1547-1572. doi:10.1210/er.2019-00049
2. NOWAKOWSKI H, LENZ W. Genetic aspects in male hypogonadism. *Recent Prog Horm Res.* 1961;17:53-95.
3. Walsh PC, Madden JD, Harrod MJ, Goldstein JL, MacDonald PC, Wilson JD. Familial incomplete male pseudohermaphroditism, type 2. Decreased dihydrotestosterone formation in pseudovaginal perineoscrotal hypospadias. *N Engl J Med.* Oct 1974;291(18):944-9. doi:10.1056/NEJM197410312911806
4. Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5alpha-reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science.* Dec 1974;186(4170):1213-5.
5. Batista RL, Mendonca BB. Integrative and Analytical Review of the 5-Alpha-Reductase Type 2 Deficiency Worldwide. *Appl Clin Genet.* 2020;13:83-96. doi:10.2147/TACG.S198178
6. Alswailem MM, Alzahrani OS, Alghofaili L, et al. Molecular genetics and phenotype/genotype correlation of 5- α reductase deficiency in a highly consanguineous population. *Endocrine.* 02 2019;63(2):361-368. doi:10.1007/s12020-018-1767-1
7. Costa EF, Domenice S, Sircili M, Inacio M, Mendonca B. DSD due to 5 α -reductase 2 deficiency - From diagnosis to long term outcome. Article. *Seminars in Reproductive Medicine.* 2012;30(5):427-431. doi:10.1055/s-0032-1324727
8. Silver RI, Wiley EL, Thigpen AE, Guileyardo JM, McConnell JD, Russell DW. Cell type specific expression of steroid 5 alpha-reductase 2. *J Urol.* Aug 1994;152(2 Pt 1):438-42.
9. Kang HJ, Imperato-McGinley J, Zhu YS, Rosenwaks Z. The effect of 5 α -reductase-2 deficiency on human fertility. *Fertil Steril.* Feb 2014;101(2):310-6. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.11.128
10. Mendonca BB, Inacio M, Costa EM, et al. Male pseudohermaphroditism due to steroid 5alpha-reductase 2 deficiency. Diagnosis, psychological evaluation, and management. *Medicine (Baltimore).* Mar 1996;75(2):64-76.
11. Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem.* 1994;63:25-61. doi:10.1146/annurev.bi.63.070194.000325
12. Thigpen AE, Silver RI, Guileyardo JM, Casey ML, McConnell JD, Russell DW. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 alpha-reductase isozyme expression. *J Clin Invest.* Aug 1993;92(2):903-10. doi:10.1172/JCI116665
13. Thigpen AE, Davis DL, Milatovich A, et al. Molecular genetics of steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency. *J Clin Invest.* Sep 1992;90(3):799-809. doi:10.1172/JCI115954
14. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW. Deletion of steroid 5 alpha-reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. *Nature.* Nov 1991;354(6349):159-61. doi:10.1038/354159a0

15. Mendonca BB, Batista RL, Domenice S, et al. Reprint of "Steroid 5 α -reductase 2 deficiency". *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2017;165:95-100. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.11.006
16. Wigley WC, Prihoda JS, Mowszowicz I, et al. Natural mutagenesis study of the human steroid 5 alpha-reductase 2 isozyme. *Biochemistry*. Feb 1994;33(5):1265-70.
17. Mazen I, Gad YZ, Hafez M, Sultan C, Lumbroso S. Molecular analysis of 5alpha-reductase type 2 gene in eight unrelated egyptian children with suspected 5alpha-reductase deficiency: prevalence of the G34R mutation. *Clin Endocrinol (Oxf)*. May 2003;58(5):627-31.
18. Maimoun L, Philibert P, Cammas B, et al. Phenotypical, biological, and molecular heterogeneity of 5 α -reductase deficiency: An extensive international experience of 55 patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2011;96(2):296-307. doi:10.1210/jc.2010-1024
19. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency. *Endocr Rev*. Oct 1993;14(5):577-93. doi:10.1210/edrv-14-5-577
20. Ng WK, Taylor NF, Hughes IA, Taylor J, Ransley PG, Grant DB. 5 alpha-reductase deficiency without hypospadias. *Arch Dis Child*. Oct 1990;65(10):1166-7.
21. Schoenwolf G, Bleyl S, Brauer P, Francis-West P. *Larsen Embriologia Humana*. 5th ed. Elsevier; 2016.
22. Imperato-McGinley J, Gautier T, Zirinsky K, et al. Prostate visualization studies in males homozygous and heterozygous for 5 alpha-reductase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. Oct 1992;75(4):1022-6. doi:10.1210/jcem.75.4.1400866
23. Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5 α -reductase deficiency in man: An inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science*. 1974;186(4170):1213-1215. doi:10.1126/science.186.4170.1213
24. Imperato-Mcginley J, Peterson RE, Gautier T, Sturla E. Male pseudohermaphroditism secondary to 5 α -reductase deficiency-A model for the role of androgens in both the development of the male phenotype and the evolution of a male gender identity. *Journal of Steroid Biochemistry*. 1979;11(1 PART 2):637-645. doi:10.1016/0022-4731(79)90093-1
25. Słowikowska-Hilczer J, Hirschberg AL, Claahsen-van der Grinten H, et al. Fertility outcome and information on fertility issues in individuals with different forms of disorders of sex development: findings from the dsd-LIFE study. Article. *Fertility and Sterility*. 2017;108(5):822-831. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.08.013
26. P T. Male Reproductive Physiology. In: A P, R D, L K, C P, eds. *Campbell-Walsh-Urology*. 12th ed. Elsevier; 2020.
27. Misell LM, Holochwost D, Boban D, et al. A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. *J Urol*. Jan 2006;175(1):242-6; discussion 246. doi:10.1016/S0022-5347(05)00053-4
28. Clermont Y. Renewal of spermatogonia in man. *Am J Anat*. Mar 1966;118(2):509-24. doi:10.1002/aja.1001180211
29. Schlegel PN HM, Goldstein M. *Male reproductive physiology*. in *Campbell-Walsh Urology*. Elsevier; 2007:577 - 608.

30. Mehta A, Sigman M. Management of the dry ejaculate: A systematic review of aspermia and retrograde ejaculation. Review. *Fertility and Sterility*. 2015;104(5):1074-1081. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.09.024
31. Master VA, Turek PJ. Ejaculatory physiology and dysfunction. *Urol Clin North Am*. May 2001;28(2):363-75, x. doi:10.1016/s0094-0143(05)70145-2
32. Steinberger E. Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiological reviews*. 1971;51(1):1-22. doi:10.1152/physrev.1971.51.1.1
33. Sharpe RM. Testosterone and spermatogenesis. *Journal of Endocrinology*. 1987;113(1):1-2. doi:10.1677/joe.0.1130001
34. Roberts KP, Zirkin BR. *Androgen Regulation of Spermatogenesis in the Rat*. 1991.
35. Page ST. Physiologic role and regulation of intratesticular sex steroids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. Jun 2011;18(3):217-23. doi:10.1097/MED.0b013e328345d50e
36. Coviello AD, Matsumoto AM, Bremner WJ, et al. Low-dose human chorionic gonadotropin maintains intratesticular testosterone in normal men with testosterone-induced gonadotropin suppression. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005;90(5):2595-2602. doi:10.1210/jc.2004-0802
37. Jarow JP, Zirkin BR. *The androgen microenvironment of the human testis and hormonal control of spermatogenesis*. 2005.
38. Cai LQ, Fratianni CM, Gautier T, Imperato-McGinley J. Dihydrotestosterone regulation of semen in male pseudohermaphrodites with 5 α -reductase-2 deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1994;79(2):409-414. doi:10.1210/jc.79.2.409
39. Katz MD, Kligman I, Cai LQ, et al. Brief report: Paternity by intrauterine insemination with sperm from a man with 5 α -reductase-2 deficiency. *New England Journal of Medicine*. 1997;336(14):994-997. doi:10.1056/NEJM199704033361404
40. Kang HJ, Imperato-Mcginley J, Zhu YS, et al. The first successful paternity through in vitro fertilization- intracytoplasmic sperm injection with a man homozygous for the 5 α -reductase-2 gene mutation. *Fertility and Sterility*. 2011;95(6):2125.e5-2125.e8. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.01.121
41. Jiang DD, Acevedo AM, Bayne A, Austin JC, Seideman CA. Factors associated with delay in undescended testis referral. *J Pediatr Urol*. Aug 2019;15(4):380.e1-380.e6. doi:10.1016/j.jpuro.2019.03.029
42. Loebenstein M, Thorup J, Cortes D, Clasen-Linde E, Hutson JM, Li R. Cryptorchidism, gonocyte development, and the risks of germ cell malignancy and infertility: A systematic review. Review. *Journal of Pediatric Surgery*. 2020;55(7):1201-1210. doi:10.1016/j.jpedsurg.2019.06.023
43. Sijstermans K, Hack WWM, Meijer RW, Voort-Doedens LMVD. The frequency of undescended testis from birth to adulthood: A review. *International Journal of Andrology*. 2008;31(1):1-11. doi:10.1111/j.1365-2605.2007.00770.x
44. Schneuer FJ, Holland AJA, Pereira G, Jamieson S, Bower C, Nassar N. Age at surgery and outcomes of an undescended testis. *Pediatrics*. 2016;137(2)e20152768. doi:10.1542/peds.2015-2768

45. Cendron M, Huff DS, Keating MA, Snyder Iii HM, Duckett JW. Anatomical, morphological and volumetric analysis: A review of 759 cases of testicular maldescent. *Journal of Urology*. 1993;149(3):570-573. doi:10.1016/S0022-5347(17)36151-7
46. Nassau DE, Chu KY, Blachman-Braun R, Castellan M, Ramasamy R. The pediatric patient and future fertility: optimizing long-term male reproductive health outcomes. Review. *Fertility and Sterility*. 2020;113(3):489-499. doi:10.1016/j.fertnstert.2020.01.003
47. Trussell JC, Lee PA. The relationship of cryptorchidism to fertility. *Current urology reports*. 2004;5(2):142-148. doi:10.1007/s11934-004-0028-4
48. Lee PA. Fertility after cryptorchidism: Epidemiology and other outcome studies. *Urology*. 2005;66(2):427-431. doi:10.1016/j.urology.2005.01.017
49. Schneuer FJ, Milne E, Jamieson SE, et al. Association between male genital anomalies and adult male reproductive disorders: a population-based data linkage study spanning more than 40 years. *The Lancet Child and Adolescent Health*. 2018;2(10):736-743. doi:10.1016/S2352-4642(18)30254-2
50. Tasian GE, Hittelman AB, Kim GE, DiSandro MJ, Baskin LS. Age at Orchiopexy and Testis Palpability Predict Germ and Leydig Cell Loss: Clinical Predictors of Adverse Histological Features of Cryptorchidism. *Journal of Urology*. 2009;182(2):704-709. doi:10.1016/j.juro.2009.04032
51. Nistal M, Riestra ML, Paniagua R. Correlation between testicular biopsies (prepubertal and postpubertal) and spermiogram in cryptorchid men. *Human Pathology*. 2000;31(9):1022-1030. doi:10.1053/hupa.2000.16280
52. Rusnack SL, Wu HY, Huff DS, et al. Testis histopathology in boys with cryptorchidism correlates with future fertility potential. *Journal of Urology*. 2003;169(2):659-662. doi:10.1016/S0022-5347(05)63986-9
53. Mechlin CW, Kogan BA. What lessons can be learned from testicular histology in undescended testes? *Transl Androl Urol*. Dec 2014;3(4):365-9. doi:10.3978/j.issn.2223-4683.2014.10.01
54. Hadziselimovic F, Thommen L, Girard J, Herzog B. The significance of postnatal gonadotropin surge for testicular development in normal and cryptorchid testes. *Journal of Urology*. 1986;136(1)(2):274-276.
55. Huff DS, Hadziselimović F, Snyder 3rd HM, Blyth B, Duckett JW. Early postnatal testicular maldevelopment in cryptorchidism. *Journal of Urology*. 1991:624-626.
56. Hadziselimovic F, Zivkovic D, Bica DTG, et al. The importance of mini-puberty for fertility in cryptorchidism. *Journal of Urology*. 2005;174(4 II):1536-1539. doi:10.1097/01.ju.0000181506.97839.b0
57. Hadziselimovic F, Höcht B, Herzog B, Buser MW. Infertility in cryptorchidism is linked to the stage of germ cell development at orchidopexy. *Hormone Research*. 2007;68(1):46-52. doi:10.1159/000100874
58. Hadziselimovic F, Herzog B. The importance of both an early orchidopexy and germ cell maturation for fertility. *Lancet*. 2001;358(9288):1156-1157. doi:10.1016/S0140-6736(01)06274-2

59. Rohayem J, Luberto A, Nieschlag E, Zitzmann M, Kliesch S. Delayed treatment of undescended testes may promote hypogonadism and infertility. *Endocrine*. 2017;55(3):914-924. doi:10.1007/s12020-016-1178-0
60. Hildorf S, Clasen-Linde E, Cortes D, Fossum M, Thorup J. Fertility Potential is Compromised in 20% to 25% of Boys with Nonsyndromic Cryptorchidism despite Orchiopexy within the First Year of Life. *J Urol*. 04 2020;203(4):832-840. doi:10.1097/JU.0000000000000615
61. C. Radmayr (Chair) GB, H.S. Dogan, J.M. Nijman (Vice-chair), M.S. Silay, R. Stein, S. Tekgül Guidelines Associates: L.A. 't Hoen, J. Quaedackers, N. Bhatt. EAU Guidelines on Paediatric Urology. European Association of Urology and European Society of Paediatric Urology. 2020.
62. Medicine PCotASfR. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril*. Mar 2015;103(3):e18-25. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.12.103
63. Urology PCotASfRMicwtSfMRa. Evaluation of the azoospermic male: a committee opinion. *Fertil Steril*. 05 2018;109(5):777-782. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.01.043
64. Team WSaRHAR. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen - 5th ed*. 5th Edition ed. World Health Organization; 2010.
65. Tournaye H, Camus M, Goossens A, et al. Recent concepts in the management of infertility because of non-obstructive azoospermia. *Human Reproduction*. 1995;10(SUPPL. 1):115-119. doi:10.1093/humrep/10.suppl_1.115
66. Bendikson KA, Neri QV, Takeuchi T, et al. The Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection Using Occasional Spermatozoa in the Ejaculate of Men With Spermatogenic Failure. *Journal of Urology*. 2008;180(3):1060-1064. doi:10.1016/j.juro.2008.05.025
67. Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. The epidemiology and etiology of azoospermia. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68 Suppl 1:15-26.
68. Alrabeeah K, Wachter A, Phillips S, Cohen B, Al-Hathal N, Zini A. Sperm retrieval outcomes with microdissection testicular sperm extraction (micro-TESE) in men with cryptozoospermia. Article. *Andrology*. 2015;3(3):462-466. doi:10.1111/andr.12000
69. Schlegel PN. Nonobstructive azoospermia: A revolutionary surgical approach and results. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2009;27(2):165-170. doi:10.1055/s-0029-1202305
70. Schlegel PN, Palermo GD, Goldstein M, et al. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia. *Urology*. Mar 1997;49(3):435-40. doi:10.1016/S0090-4295(97)00032-0
71. Esteves SC, Miyaoka R, Orosz JE, Agarwal A. An update on sperm retrieval techniques for azoospermic males. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68 Suppl 1:99-110. doi:10.6061/clinics/2013(sup01)11
72. Schlegel PN. Testicular sperm extraction: Microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Human Reproduction*. 1999;14(1):131-135. doi:10.1093/humrep/14.1.131
73. Bernie AM, Mata DA, Ramasamy R, Schlegel PN. Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and

- testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. Nov 2015;104(5):1099-103.e1-3. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.07.1136
74. Su LM, Palermo GD, Goldstein M, Veeck LL, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia: testicular histology can predict success of sperm retrieval. *J Urol*. Jan 1999;161(1):112-6.
75. Sousa M, Cremades N, Silva J, et al. Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen-thawed sperm and spermatids. Article. *Human Reproduction*. 2002;17(7):1800-1810. doi:10.1093/humrep/17.7.1800
76. Arshad MA, Majzoub A, Esteves SC. Predictors of surgical sperm retrieval in non-obstructive azoospermia: summary of current literature. *Int Urol Nephrol*. Nov 2020;52(11):2015-2038. doi:10.1007/s11255-020-02529-4
77. Corona G, Minhas S, Giwercman A, et al. Sperm recovery and ICSI outcomes in men with non-obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 11 2019;25(6):733-757. doi:10.1093/humupd/dmz028
78. Barbotin AL, Dauvergne A, Dumont A, et al. Bilateral versus unilateral cryptorchidism in nonobstructive azoospermia: Testicular sperm extraction outcomes. *Asian J Androl*. 2019 Sep-Oct 2019;21(5):445-451. doi:10.4103/aja.aja_2_19
79. Raman JD, Schlegel PN. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection is successful for the treatment of nonobstructive azoospermia associated with cryptorchidism. *Journal of Urology*. 2003;170(4 I):1287-1290. doi:10.1097/01.ju.0000080707.75753.ec
80. Wisner A, Raviv G, Weissenberg R, et al. Does age at orchidopexy impact on the results of testicular sperm extraction? *Reprod Biomed Online*. Dec 2009;19(6):778-83. doi:10.1016/j.rbmo.2009.09.031
81. Bryson CF, Ramasamy R, Sheehan M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Severe testicular atrophy does not affect the success of microdissection testicular sperm extraction. *J Urol*. Jan 2014;191(1):175-8. doi:10.1016/j.juro.2013.07.065
82. Bertelloni S, Baldinotti F, Baroncelli GI, Caligo MA, Peroni D. Paternity in 5 α -Reductase-2 Deficiency: Report of Two Brothers with Spontaneous or Assisted Fertility and Literature Review. *Sex Dev*. 2019;13(2):55-59. doi:10.1159/000497400
83. Ivarsson SA. 5- α reductase deficient men are fertile [6]. *European Journal of Pediatrics*. 1996;155(5):425. doi:10.1007/BF01955283
84. Ivarsson SA, Nielsen MD, Lindberg T. Male pseudohermaphroditism due to 5 α -reductase deficiency in a Swedish family. *European Journal of Pediatrics*. 1988;147(5):532-535. doi:10.1007/BF00441984
85. Katz MD, Kligman I, Cai LQ, et al. Paternity by intrauterine insemination with sperm from a man with 5 α -reductase-2 deficiency. *N Engl J Med*. Apr 1997;336(14):994-7. doi:10.1056/NEJM199704033361404
86. Kang HJ, Imperato-McGinley J, Zhu YS, et al. The first successful paternity through in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection with a man homozygous for the 5 α -reductase-2 gene mutation. *Fertil Steril*. May 2011;95(6):2125.e5-8. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.01.121

87. Matsubara K, Iwamoto H, Yoshida A, Ogata T. Semen analysis and successful paternity by intracytoplasmic sperm injection in a man with steroid 5 α -reductase-2 deficiency. *Fertil Steril*. Dec 2010;94(7):2770.e7-10. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.04.013
88. Wigley WC, Prihoda JS, Mowszowicz I, et al. Natural Mutagenesis Study of the Human Steroid 5 α -Reductase 2 Isozyme. *Biochemistry*. 1994;33(5):1265-1270. doi:10.1021/bi00171a029
89. Thigpen AE, Davis DL, Milatovich A, et al. Molecular genetics of steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *Journal of Clinical Investigation*. 1992;90(3):799-809. doi:10.1172/JCI115954