

1. TÍTULO

AZOOSPERMIA NÃO OBSTRUTIVA: EXISTEM DIFERENÇAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS ENTRE AS CAUSAS CROMOSSÔMICAS E AS NÃO ESCLARECIDAS?

2. RESUMO E PALAVRAS CHAVE

INTRODUÇÃO: A infertilidade afeta 12% da população masculina e tem diversas etiologias, como as anomalias cromossômicas. **OBJETIVO:** Verificar diferenças clínicas e laboratoriais entre homens com azoospermia não-obstrutiva com diagnóstico de alteração cromossômica em relação àqueles sem diagnóstico etiológico definido. **MÉTODOS:** Estudo observacional, transversal e retrospectivo baseado na análise de prontuários médicos. Foram incluídos todos os homens entre 20 e 40 anos com azoospermia não-obstrutiva encaminhados a um único serviço de janeiro de 2010 a dezembro de 2019. Foram analisados dados referentes a ginecomastia, tamanho peniano, volume testicular, estatura, IMC, envergadura e média de estatura dos pais, além de dosagens séricas de LH, FSH e testosterona total. **RESULTADOS:** Dos 107 casos analisados, 14 eram de Síndrome de Klinefelter (SK) (13%), 1 mosaico SK, 4 com Distúrbios da Diferenciação do Sexo (2 com DDS XX testicular, 1 com mutação no gene *NR5A1* e 1 com insensibilidade leve aos andrógenos) (4%), 9 com outras etiologias (4 com anomalias de cromossomos sexuais, 1 com anomalia de autossomos, 2 com herança autossômica recessiva com FSH aumentado e sem mutação no *FSHR* e 2 com microdeleção de Y) (8%) e 79 com etiologia não esclarecida. Portanto, dos 107 casos, 22 tinham anomalias cromossômicas (14 SK, 1 mosaico SK, 2 com cariótipo 46,XX, 4 com anomalias de cromossomos sexuais e 1 com anomalia de autossomos) e 79 sem etiologia esclarecida. Ao se comparar estatisticamente o grupo de SK e o grupo de etiologia não esclarecida, observou-se diferenças significativas na média de volume testicular (menor no grupo SK: 4 x 20 mL); no comprimento do pênis (menor no grupo SK: 9 x 11 cm); na estatura (maior no grupo SK: 179 x 173 cm); na diferença de estatura do paciente e a média da estatura dos pais (maior no grupo SK: 9 x 4 cm); na envergadura (maior no grupo SK: 183 x 177 cm); na concentração de LH (maior no grupo SK: 21,6 x 6,8 UI/L); na concentração de FSH (maior no grupo SK: 30,5 x 14,1 UI/L); na testosterona total (menor no grupo SK: 2,7 x 4,1 ng/mL); e na frequência de ginecomastia (ausente no grupo não esclarecido e presente em mais da metade no grupo SK). O paciente com mosaico de SK apresentou clínica semelhante à SK com laboratório e volume testicular normais. Os dois casos XX testicular apresentaram volume testicular semelhante à SK porém com estatura mais baixa e demais dados intermediários entre a SK e o grupo não esclarecido. Os casos com outras anomalias cromossômicas se assemelharam clínica e laboratorialmente com os de etiologia não esclarecida. **CONCLUSÃO:** Existem diferenças clínicas e laboratoriais que diferenciam os homens com azoospermia não

obstrutiva e com alteração cromossômica, em especial SK e Homem XX, daqueles sem etiologia esclarecida ou com outras alterações em cromossomos sexuais ou autossomos.

Palavras chave: contagem de espermatozoides, envergadura, estatura, infertilidade, gonadotrofinas

3. INTRODUÇÃO

Entende-se por infertilidade masculina a incapacidade biológica por parte do homem de induzir gravidez em uma mulher fértil após manter relações sexuais desprotegidas por um período de pelo menos um ano (Zegers-Hochschild et al, 2017). Estudo realizado com a população norte-americana revelou que 12% da população masculina de 15 a 44 anos é infértil (Louis et al, 2013).

Os principais fatores relacionados à infertilidade incluem obesidade, infecções, neoplasias, criptorquidia, tabagismo, varicocele, defeitos cromossômicos, defeitos do ducto espermático, exposição da bolsa escrotal a altas temperaturas, desequilíbrios hormonais, doença celíaca, medicações, intoxicações por metais pesados e exposição à radiação ionizante (Olayemi, 2010; American Urological Association, 2010; Katib, 2015).

Especificamente em relação às causas genéticas de infertilidade masculina, sabe-se que cerca de 15 a 20% dos homens com azoospermia ou oligospermia grave não-obstrutiva apresentam microdeleções no braço longo do cromossomo Y (regiões AZFa, b ou c), onde estão localizados genes relacionados à espermatogênese (Tournaye et al, 2017; Krausz et al, 2018). Uma parcela dos casos pode ainda estar relacionada a Distúrbios da Diferenciação do Sexo (DDS), como a síndrome de Klinefelter (SK), o DDS 46,XX testicular (anteriormente denominado Homem XX), e distúrbios na síntese ou ação dos hormônios testiculares (American Society for Reproductive Medicine, 2015).

As casuísticas de DDS encontradas na literatura incluem basicamente pacientes na faixa etária pediátrica, sendo a ambiguidade genital o principal motivo de encaminhamento (Balkan et al, 2008; Quan et al, 2013). Em contrapartida, estudos genéticos sobre a infertilidade masculina são voltados principalmente para a busca de alterações cromossômicas e a pesquisa de microdeleções de Y (Massart et al, 2012; Hotaling & Carrell, 2014). Nesses estudos, assim como nos *guidelines* de investigação de infertilidade masculina (American Urological Association, 2010), não são buscados especificamente os DDS como causa do problema.

Um estudo recente, incluindo 84 homens com infertilidade (azoospermia ou oligospermia grave) não-obstrutiva, mostrou que 10 casos (12%) tinham a SK, um caso era DDS 46,XX testicular e um caso com síndrome de Insensibilidade Leve aos Andrógenos (ILA). Ainda foram observados quatro casos com anomalia estrutural do cromossomo Y, dois com microdeleção do cromossomo Y e outro com anomalia de autossomo. Estes casos todos corresponderam a 22% da casuística avaliada.

Na casuística total, 14 apresentaram somente aumento de FSH, 23 com aumento de FSH e LH e 13 somente com diminuição de testosterona (Yabiku et al, 2018).

Tendo em vista que cerca de $\frac{1}{4}$ dos homens com infertilidade grave apresentam alterações cromossômicas e que as características clínicas e laboratoriais desses homens em relação aos sem anomalias cromossômicas não são bem estudadas na literatura, torna-se necessário verificar se estes dados podem ser úteis para diferenciar os homens com anomalias cromossômicas daqueles sem etiologia esclarecida.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Trata-se de estudo observacional, transversal e retrospectivo realizado com base na análise de prontuários médicos. A casuística incluiu todos os homens com azoospermia não-obstrutiva com idade entre 20 e 40 anos encaminhados ao ambulatório de um único serviço para elucidação etiológica de janeiro de 2010 a dezembro de 2019. Em todos estes casos foi realizado o estudo do cariótipo convencional com bandamento G, resolução de 400 bandas e contagem de no mínimo 20 metáfases. Naqueles com cariótipo normal foi realizada a pesquisa de microdeleção do cromossomo Y pela técnica de PCR-multiplex, utilizando 28 marcadores moleculares que mapeiam as três regiões consideradas como locus de azoospermia (AZFa, AZFb, AZFc). Critérios de inclusão: queixa principal de esterilidade conjugal com azoospermia (confirmada por pelo menos dois espermogramas) não-obstrutiva e ausência de história de uso de medicações ou doenças como causa conhecida de infertilidade masculina. Critérios de exclusão: ter dados clínicos e/ou laboratoriais incompletos no prontuário.

Foram obtidos os seguintes dados clínicos: diagnóstico clínico, antecedentes familiares (consanguinidade entre os pais e recorrência familiar de infertilidade, sendo considerada esta última positiva se houver parentes do sexo masculino, até primos em terceiro grau, que não obtiveram gestações espontâneas), estatura (cm) e a diferença com a média da estatura alvo familiar (Tanner, 1989), envergadura (cm) e sua relação com a estatura, índice de massa corporal (IMC em kg/m^2), comprimento peniano (cm) (Gabrigh et al, 2007), volume testicular (mL) e presença ou ausência de ginecomastia.

Também foram obtidos os seguintes dados laboratoriais: LH, FSH e testosterona total, resultados do cariótipo, da pesquisa de microdeleções do cromossomo Y e de outros exames complementares citogenéticos ou moleculares.

Para análise dos dados foi utilizado o *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 23.0 (SPSS, Inc., Chicago, USA) com dados de frequência absoluta e relativa e análise pelo teste de Mann-Whitney, com significância se $p < 0,05$.

5. ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS GARANTIDOS AOS PARTICIPANTES DA PESQUISA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (CAAE: 31480020.0.0000.5404).

6. RESULTADOS

Foram incluídos 107 casos: 14 com SK, 1 com mosaico SK (46,XY/47,XXY), 4 com outras anomalias de cromossomos sexuais [1 com 47,XXY; 1 com 46,X,idel(Yq); 1 com 46,XY,del(Y)(q12); 1 com 46,X,inv(Y)(p.11.2;q11.23)], 1 com anomalia de autossomos [46,XY,t(6;13)(p12;p13)], 2 com microdeleção de Yq, 2 com infertilidade autossômica recessiva (AR) com aumento de FSH e sem mutação no gene *FSHR*, 1 com síndrome de ILA e mutação confirmada no gene *AR*, 2 com DDS 46,XX testicular, 1 com mutação no gene *NR5A1*, e 79 com etiologia não esclarecida (Tabela 1). Neste grupo com etiologia definida, podem ser considerados DDS os casos de SK, mosaico SK, ILA, mutação no *NR5A1* e DDS XX testicular (19 de 107 casos; 17,7%) e, com anomalias cromossômicas, os casos de SK, mosaico SK, DDS XX testicular, outras anomalias de cromossomos sexuais ou de autossomos (22 de 107; 20,6%).

Tabela 1: Dados clínicos e laboratoriais de 101 casos (22 com anomalias cromossômicas e 79 de causa não esclarecida) de homens com azoospermia não-obstrutiva.

	SK	Mosaico SK	ACS	AA	XX testicular	Não Esclarecido
n	14	1	4	1	2	79
Pênis (cm)*	9	9	11	13	10	11
Vol testicular (mL)*	4	20	19	20	5	15
Estatura (E) (cm)*	179	178	170	176	172	173
Estatura Pais (EP) (cm)	170	172	168	170	168	169
E – EP (cm)*	9	6	2	6	4	4
Envergadura (Env) (cm)*	183	186	174	175	174	177
E/Env	1,02	1,04	1,02	1,0	1,02	1,02

IMC (Kg/m²)	28,1	28,7	35,9	21,9	23,1	26,2
LH (UI/L)*	21,6	3,8	7,3	4,6	11,5	6,8
FSH (UI/L)*	30,5	2,8	17,4	1,7	22,0	14,1
Testosterona (ng/mL)*	2,7	4,7	2,2	3,6	5,7	4,5

AA: Anomalia de Autossomo; ACS: Anomalia de Cromossomo Sexual; IMC: Índice de Massa Corporal; SK: Síndrome de Klinefelter; Vol test: média do volume testicular bilateral;

*: diferença estaticamente significativa entre SK e Não Esclarecido (teste de Mann-Whitney)

Pelo número pequeno de casos em alguns destes grupos, apenas os dados entre os 14 com SK e os 79 com etiologia não esclarecida foram comparados estatisticamente.

Não foram observadas diferenças estaticamente significativas (teste de Mann-Whitney) entre os grupos SK (n=14) e de etiologia não esclarecida (n=79) para estatura dos pais (p=0,37), relação entre estatura e envergadura (p=0,98) e IMC (p=0,15) (Tabela 1). No entanto, foram observadas diferenças estaticamente significativas entre estes dois grupos para a média do volume testicular (p<0,0001) sendo menor no grupo SK, para comprimento do pênis (p<0,001) sendo menor no grupo SK, para estatura (p<0,001) sendo maior no grupo SK, para a diferença entre a estatura do paciente e a média da estatura dos pais (p<0,0001) sendo maior no grupo SK, para envergadura (p<0,01) sendo maior no grupo SK, para a concentração sérica de LH (p<0,0001) sendo maior no grupo SK, para a concentração sérica de FSH (p<0,0001) sendo maior no grupo SK, e para testosterona total (p<0,001) sendo menor no grupo SK (Tabela 1).

O paciente com mosaico da SK tem comportamento laboratorial (LH, FSH e testosterona total) e volume testicular médio semelhante ao grupo não esclarecido, mas teve comprimento do pênis, estatura, envergadura e IMC semelhantes ao grupo SK (Tabela 1). Os pacientes com DDS XX testicular (n=2) apresentaram LH e FSH e comprimento do pênis intermediários entre os grupos SK e não esclarecido, volume testicular semelhante ao da SK, e os demais dados semelhantes ao grupo não esclarecido (Tabela 1). Os demais casos (outras anomalias de cromossomos sexuais ou autossomos) não diferem significativamente do grupo não esclarecido.

Foi observada diferença significativa em relação à presença de ginecomastia entre os grupos SK e não esclarecido, sendo ausente no grupo não esclarecido e presente em mais da metade no grupo SK (Tabela 2). O único outro caso que apresentou ginecomastia foi o de ILA.

Tabela 2: Dado de presença de ginecomastia de 93 casos de infertilidade masculina.

Ginecomastia	SK	Não Esclarecido	Total
Ausente	6	79	85
Presente	8	0	8
Total	14	79	93

SK: Síndrome de Klinefelter

7. DISCUSSÃO

O presente estudo observou que cerca de 20% dos casos de azoospermia não-obstrutiva estão associados a anomalias cromossômicas ou DDS. Estes dados são próximos aos descritos na literatura de cerca de 15% (Ferlin et al, 2007; Pelzmann & Hwang, 2021).

A SK é a etiologia genética e cromossômica mais frequente em casos de azoospermia não-obstrutiva. Segundo Abramsky & Chapple (1997), cerca de 3% das causas de infertilidade masculina são decorrentes da SK. No presente estudo foram 15 em 107 casos (14%) de azoospermia não-obstrutiva. No entanto, apenas 25% dos portadores da SK são diagnosticados durante a vida, e a imensa maioria na vida adulta por infertilidade (Bojesen & Gravholt, 2007; Tincani et al, 2012).

Mais raramente, indivíduos com DDS XX testicular (Homem XX) podem também ser identificados entre indivíduos com queixa de azoospermia não-obstrutiva. Esses indivíduos, em sua maioria, têm o gene *SRY* translocado sobre um dos cromossomos X e seu fenótipo é praticamente idêntico ao de indivíduos com a SK. Nesses casos, a falta de produção dos espermatozoides decorre da ausência dos outros genes do cromossomo Y (Gao et al., 2013).

Outras anomalias de cromossomos sexuais ou de autossomos também podem ocorrer, porém numa frequência muito menor, como observado no presente estudo. Casos de disgenesia gonadal parcial XY, disgenesia gonadal mista e DDS ovotesticular podem também ser encontrados entre indivíduos com genitais masculinos típicos ou com alto grau de androgenização e só serem detectados na vida adulta por infertilidade (Lee et al, 2016). Outros DDS 46,XY, não associados a distúrbios da diferenciação gonadal, também podem não ser diagnosticadas na infância e ter como principal queixa a infertilidade. É o caso do hipogonadismo hipogonadotrófico, de formas mais leves dos defeitos de síntese de testosterona e também de mutações do receptor de andrógenos com fenótipo masculino (forma leve da insensibilidade androgênica) ou ambiguidade genital pouco evidente, nos quais a redução na produção de espermatozoides ocorre por defeitos na ação dos andrógenos (Hughes et al, 2012; Guercio & Rey, 2014). Alguns raros indivíduos com deficiência da enzima 5-alfa-redutase tipo 2 também podem ter androgenização mais acentuada dos genitais externos e não serem diagnosticados na infância; na vida adulta, a fertilidade desses indivíduos pode ser comprometida

pelo subdesenvolvimento da próstata e de vesículas seminais por deficiência na síntese de DHT (Zhu & Imperato-Mcginley, 2009). No presente estudo, além dos casos de SK e DDS XX testicular, foi diagnosticado um caso de disgenesia gonadal parcial XY por mutação no gene *NR5A1* e um caso de ILA com mutação no gene *AR*.

Portanto, a observação de dados clínicos e laboratoriais que possam diferenciar os casos de azoospermia não-obstrutiva com anomalias cromossômicas ou DDS das outras etiologias é de fundamental importância.

No presente estudo as anomalias de cromossomos sexuais (exceto SK e DDS XX testicular) e as anomalias de autossomos não apresentaram diferenças clínicas e laboratoriais em relação aos casos de etiologia não esclarecida. Existem poucos estudos na literatura para comparar estes resultados (Ratcliffe, 1999; Rogol, 2020).

No entanto, em relação aos casos de etiologia não esclarecida, a SK apresentou menor volume testicular, menor comprimento do pênis, maior estatura, maior envergadura, maior diferença entre a estatura do paciente e a média da estatura dos pais, maiores valores sérios de LH e FSH e menor de testosterona; além da ginecomastia estar ausente no grupo não esclarecido e presente em mais da metade no grupo SK. Na literatura, o volume testicular menor que 6 mL está presente em mais de 95% dos casos de SK (Lafranco et al, 2004; Groth et al, 2013), o mesmo ocorrendo com o aumento sérico das gonadotrofinas (Salbenblatt et al, 1985; Smyth & Bremner, 1998; Groth et al, 2013). A diminuição sérica da testosterona está presente em 63 a 85% dos casos de SK, sendo mais frequente quanto maior a faixa etária (Salbenblatt et al, 1985; Smyth & Bremner, 1998; Groth et al, 2013). A ginecomastia está presente em cerca de 38 a 75% dos casos, tanto em adolescentes como em adultos (Salbenblatt et al, 1985; Ratcliffe, 1999; Lafranco et al, 2004; Groth et al, 2013). O aumento da estatura está presente em cerca de 30% dos casos de crianças e adultos com SK (Ratcliffe, 1999; Vorona et al, 2007; Groth et al, 2013). O menor tamanho peniano está presente em 10 a 25% das crianças e adultos com SK (Ratcliffe, 1999; Groth et al, 2013). Portanto, apesar dos achados descritos no presente estudo serem frequentes na SK, eles se demonstraram diferenciais importantes de outros casos não cromossômicos de azoospermia não-obstrutiva.

O paciente com mosaico da SK teve comportamento laboratorial semelhante ao grupo não esclarecido, mas clínico semelhante ao de SK, exceto pelo volume testicular normal. Nos casos de mosaicismo de cromossomos sexuais é difícil estabelecer uma característica clínica específica sem conhecer efetivamente o percentual de cada linhagem nos diversos tecidos, incluindo as gônadas (Rives et al, 2000). Os dois pacientes com DDS XX testicular apresentaram quadro clínico semelhante ao grupo não esclarecido, exceto pelo volume testicular diminuído, e quadro laboratorial de hipogonadismo hipergonadotrófico porém não tão grave quanto o da SK; dados semelhantes aos descritos na literatura (Gao et al, 2013; Wu et al, 2014; Terribile et al, 2019).

Trata-se de um estudo que apresenta as limitações conhecidas de levantamento de dados retrospectivos, mas que traz importantes informações clínicas na investigação de homens com infertilidade de causa não-obstrutiva. A análise envolveu uma casuística significativa, avaliada de forma homogênea por um único serviço durante 10 anos, com realização de cariótipo em todos os casos e de pesquisa de microdeleção de Y em todos com cariótipo normal.

8. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que cerca de 20% dos casos de azoospermia não-obstrutiva possuem como etiologia as causas cromossômicas. Além disso, através dele foi possível confirmar que existem diferenças clínicas e laboratoriais entre os pacientes com azoospermia não obstrutiva e alterações cromossômicas em relação aos com etiologia desconhecida; essas diferenças foram mais importantes principalmente quando comparados os pacientes com SK ou DDS XX em relação aos com etiologia não esclarecida.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramsky L, Chapple J. 47,XXY (Klinefelter syndrome) and 47,XYY: estimated rates and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counselling. *Prenat Diagn* 17:363-368, 1997.
- American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. *Fertil Steril* 103:e18, 2015.
- American Urological Association. The optimal evaluation of the infertile male: AUA best practice statement. Linthicum: American Urological Association Education and Research Inc., 2010.
- Balkan M, Tekes S, Gedik A. Cytogenetic and y chromosome microdeletion screening studies in infertile males with oligozoospermia and azoospermia in southeast turkey. *J Assist Reprod Genet* 25:559-565, 2008.
- Bojesen A, Gravholt CH. Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 4(4):192-204, 2007.
- Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, [Palka G](#), [Foresta C](#). Male infertility: role of genetic background. *Reprod Biomed Online* 14(6):734-745, 2007.
- Gabrich PN, Vasconcelos JSP, Damião R, Silva EA. Penile anthropometry in Brazilian children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 83(5):441-446, 2007.
- Gao X, Chen G, Huang J, Bai Q, Zhao N, Shao M, et al. Clinical, cytogenetic, and molecular analysis with 46,XX male sex reversal syndrome: case reports. *J Assist Reprod Genet* 30:431-435, 2013.

- Groth [KA](#), [Skakkebæk A](#), [Høst C](#), [Gravholt CH](#), [Bojesen A](#). Clinical review: Klinefelter syndrome – a clinical update. *J Clin Endocrinol Metab* 98(1):20-30, 2013.
- Guercio G, Rey RA. Fertility issues in the management of patients with disorders of sex development. *Endocr Dev* 27:87-98, 2014.
- Hotaling J, Carrell DT. Clinical genetic testing for male factor infertility: current applications and future directions. *Andrology* 2:339-350, 2014.
- Hughes IA, Davies JD, Bunch TI, Pasterski V, Mastroyannopoulou K, MacDougall J. Androgen insensitivity syndrome. *Lancet* 380:1419-1428, 2012.
- Katib A. Mechanisms linking obesity to male infertility. *Cent Eur J Urol* 68(1):79-85, 2015.
- Krausz C, Cioppi F, Riera-Escamilla A. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Rev Mol Diagn* 18:331-346, 2018.
- [Lee PA](#), [Nordenström A](#), [Houk CP](#), [Ahmed SF](#), [Auchus R](#), [Baratz A](#), et al. Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. *Horm Res Paediatr* 85(3):158-180, 2016.
- Louis JF, Thoma ME, Sorensen DN, McLain AC, King RB, Sundaram R, et al. The prevalence of couple infertility in the United States from a male perspective: evidence from a nationally representative sample. *Andrology* 1:741-748, 2013.
- Massart A, Lissens W, Tournaye H, Stouffs K. Genetic causes of spermatogenic failure. *Asian J Androl* 14:40-48, 2012.
- Olayemi FO. A review on some causes of male infertility. *African J Biotechnol* 9:2834-2842, 2010.
- Pelzmann DL, Hwang K. Genetic testing for men with infertility: techniques and indications. *Transl Androl Urol* 10(3):1354-1364, 2021.
- Quan Q, Li TJ, Ding XP, Wei J, Li LX, Fu L. Infertility caused by male partners with genetic defects in Sichuan province of China. *Genet Mol Res* 12:6512-6520, 2013.
- Ratcliffe S. Long-term outcome in children of sex chromosome abnormalities. *Arch Dis Child* 80:192-195, 1999.
- [Rives N](#), [Joly G](#), [Machy A](#), [Siméon N](#), [Leclerc P](#), [Macé B](#). Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Mol Hum Reprod* 6(2):107-112, 2000.
- Rogol AD. [Human sex chromosome aneuploidies: The hypothalamic-pituitary-gonadal axis](#). *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 184(2):313-319, 2020.
- [Salbenblatt JA](#), [Bender BG](#), [Puck MH](#), [Robinson A](#), [Faiman C](#), [Winter JS](#). Pituitary-gonadal function in Klinefelter syndrome before and during puberty. *Pediatr Res* 19(1):82-86, 1985.
- Smyth CM, Bremner WJ. Klinefelter syndrome. *Arch Intern Med* 158:1309-1314, 1998.

- Tanner JM. Fetus into man: physical growth from conception to maturity. Cambridge: Harvard University Press, 1989.
- Terribile M, Stizzo M, Manfredi C, Quattrone C, Bottone F, Giordano DR, et al. [46,XX testicular Disorder of Sex Development \(DSD\): a case report and systematic review](#). *Medicina (Kaunas)* 55(7):371, 2019.
- Tincani BJ, Mascagni BR, Pinto RD, Guaragna-Filho G, Castro CC, Sewaybricker LE, et al. [Klinefelter syndrome: an unusual diagnosis in pediatric patients](#). *J Pediatr (Rio J)* 88(4):323-327, 2012.
- Tournaye H, Krausz C, Oates RD. Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. *Lancet Diab Endocrinol* 5:544-553, 2017.
- Vorona E, Zitzmann M, Gromoll J, Schüring AN, Nieschlag E. [Clinical, endocrinological, and epigenetic features of the 46,XX male syndrome, compared with 47,XXY Klinefelter patients](#). *J Clin Endocrinol Metab* 92(9):3458-3465, 2007.
- Wu QY, Li N, Li WW, Li TF, Zhang C, Cui YX, Xia XY, Zhai JS. [Clinical, molecular and cytogenetic analysis of 46, XX testicular disorder of sex development with SRY-positive](#). *BMC Urol* 14:70, 2014.
- Yabiku RS, Guaragna MS, Sousa LM, Fabbri-Scaliet H, Mazzola TN, Piveta CSC, et al. A search for Disorders of Sex Development among infertile men. *Sex Dev* 2018 [Epub ahead of print].
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Hum Reprod* 32:1786-1781, 2017.
- Zhu YS, Imperato-McGinley JL. 5alpha-reductase isozymes and androgen actions in the prostate. *Ann N Y Acad Sci* 1155:43-56, 2009.