

## Efecto de la quimioterapia y el cáncer testicular avanzado o el linfoma de Hodgkin en la integridad del ácido desoxirribonucleico del espermato\*

Cristian O'Flaherty, Barbara F Hales, Peter Chan, Bernard Robaire

*En los pacientes con cáncer –después de recibir tratamiento con quimioterapia– su capacidad reproductiva puede disminuir o perderse, por lo cual se recomienda que se lleve a cabo la criopreservación espermática antes del tratamiento. Si bien éste es un procedimiento común, aún falta información al respecto.*

*Actualmente, es común que los pacientes oncológicos soliciten la criopreservación (o, bien, ésta es aconsejada por los médicos), pero en muchos casos, los pacientes no están informados del posible daño testicular. Este artículo es interesante, ya que muestra que aunque los pacientes no pierdan su función reproductiva, existe un daño al ADN, lo que puede causar infertilidad. Es importante informar a los pacientes acerca de este daño para que realicen la criopreservación antes de iniciar la quimioterapia como medida preventiva; sin embargo, deben saber que esto no es garantía, pues la fertilidad depende de la calidad espermática previa a los tratamientos.*

### RESUMEN

**Objetivo:** determinar el efecto de la combinación de la quimioterapia en la calidad de los espermatozoides nuevos de pacientes con cáncer testicular avanzado y pacientes con linfoma de Hodgkin.

**Diseño:** estudio prospectivo longitudinal.

**Ubicación:** unidad académica.

**Pacientes:** pacientes con cáncer testicular metastásico de reciente diagnóstico y con linfoma de Hodgkin que requerían quimioterapia, en comparación con voluntarios sanos de la comunidad pareados por edad.

**Intervención:** ninguna.

**Criterio de valoración primario:** se compararon los parámetros seminales, concentraciones hormonales, volumen testicular y presencia de fragmentos de ADN en pacientes con cáncer y en voluntarios sanos de la comunidad, antes y después de la quimioterapia de los pacientes a los 6, 12, 18 y 24 meses.

**Resultados:** antes de la quimioterapia, ambos grupos de cáncer tuvieron mala calidad seminal en comparación con los voluntarios de la comunidad. Entre los pacientes con cáncer testicular y linfoma de Hodgkin, 67 y 60%, respectivamente, tuvieron  $< 5 \times 10^6$  espermatozoides/mL a los seis meses después de la quimioterapia. A los 24 meses, 60 y 57% de los pacientes con cáncer testicular y linfoma de Hodgkin, respectivamente, tuvieron concentraciones espermáticas normales. La concentración de FSH fue significativamente más alta en el grupo de cáncer, en comparación con los voluntarios de la comunidad a los 6 y 12 meses después de la quimioterapia. Antes de la quimioterapia, el daño al ADN espermático fue mayor en el grupo de cáncer que en los voluntarios de la comunidad; este daño aumentó aún más a los seis meses y se mantuvo elevado 24 meses después del tratamiento.

**Conclusiones:** el espermato generado después de la quimioterapia mantuvo un grado significativo de daño a la cromatina. Por tanto, los supervivientes de cáncer testicular y linfoma de Hodgkin están en riesgo de tener un desenlace reproductivo anormal. Se recomienda abordar apropiadamente los riesgos reproductivos y la preservación de la fertilidad antes de la quimioterapia en estos pacientes.

**Palabras clave:** quimioterapia, ensayo cometa, daño de ADN, perfil hormonal, función testicular.

### ABSTRACT

**Objective:** To determine the impact of combination chemotherapy on the quality of newly generated spermatozoa from patients with advanced testicular cancer and patients with Hodgkin lymphoma (HL).

**Design:** Prospective longitudinal study.

**Setting:** Academic facility.

**Patient(s):** Patients with newly diagnosed metastatic testicular cancer and with HL that required chemotherapy were compared with age-matched healthy community volunteers.

**Intervention(s):** None.

**Main outcome measure(s):** Semen parameters, hormone levels, testis volume, and presence of sperm DNA strand breaks in patients with cancer and in healthy community volunteers were compared before and after the patients' chemotherapy at 6, 12, 18, and 24 months.

**Result(s):** Before chemotherapy, both cancer groups had poorer semen quality compared with community volunteers. Among patients with testicular cancer and HL, 67% and 60%, respectively, had  $< 5 \times 10^6$  sperm/mL at 6 months after chemotherapy. At 24 months, 60% and 57% of patients with testicular cancer and HL, respectively, had normal sperm concentrations. Level of FSH was significantly higher in the cancer group compared with community volunteers at 6 to 12 months after chemotherapy. Before chemotherapy, sperm DNA damage was higher in the cancer group than in community volunteers; this damage was increased further at 6 months and remained elevated 24 months after treatment.

**Conclusion(s):** Sperm generated after chemotherapy maintain a significant degree of chromatin damage. Therefore, survivors of testicular cancer and HL are at risk of having abnormal reproductive outcome. Proper counseling to these patients on reproductive risks and fertility preservation before chemotherapy is recommended.

**Key words:** chemotherapy, comet assay, DNA damage, hormone profile, testicular function.

La incidencia del cáncer testicular y del linfoma de Hodgkin, dos enfermedades malignas comunes en hombres jóvenes, ha aumentado recientemente.<sup>1-3</sup> Los regímenes quimioterapéuticos mejorados para tratar el cáncer testicular y el linfoma de Hodgkin han aumentado la supervivencia.<sup>4,5</sup> Desafortunadamente, estos tratamientos tienen un efecto negativo en la salud reproductiva masculina<sup>6,7</sup> y efectos nocivos en la función testicular, lo que incluye una disminución en la tasa de fertilización y pérdidas grávidas en animales.<sup>8-11</sup> La quimioterapia produce azoospermia u oligospermia grave en algunos pacientes con cáncer<sup>6,7</sup> y puede tener un efecto negativo en la integridad del ADN espermático.

Hay mayor información que indica que los parámetros espermáticos establecidos por las guías de la Organización Mundial de la Salud<sup>12</sup> no son predictores suficientemente confiables de la fertilidad masculina.<sup>10,13-16</sup> Así, se necesitan mayores pruebas que evalúen objetivamente la calidad espermática, especialmente la integridad de la cromatina espermática, en pacientes con cáncer. Previamente reportamos un aumento en la fragmentación de las cadenas simples o dobles de ADN (determinada de acuerdo con el ensayo de cometa alcalino) y una disminución en el nivel de protaminación y compactación de la cromatina (evaluada con los ensayos CMA3 y MBBR, respectivamente) en el esperma de

pacientes con cáncer testicular y linfoma de Hodgkin antes del tratamiento.<sup>16</sup> El objetivo de este estudio fue determinar si se producen espermatozoides de calidad normal durante la recuperación de la función testicular después de la quimioterapia.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### Sujetos humanos y muestras espermáticas

Se obtuvieron muestras seminales de una cohorte de sujetos (edad de 21 a 48 años) con cáncer testicular avanzado (estadios II a III;  $n = 16$ ) después de la orquidectomía unilateral o con linfoma de Hodgkin (estadios II a IV;  $n = 16$ ). Se reclutaron voluntarios sanos de la comunidad ( $n = 11$ ) como controles. Todos los sujetos tuvieron un periodo de abstinencia de tres días. Los pacientes con cáncer testicular recibieron dos a cuatro ciclos de bleomicina, etopósido y cisplatino (BEP, por sus siglas en inglés: 30 U de bleomicina, 100 mg/m<sup>2</sup> de etopósido y 20 mg/m<sup>2</sup> de cisplatino).<sup>17,18</sup> Los pacientes con linfoma de Hodgkin recibieron cuatro a ocho ciclos de adriamicina, bleomicina, vinblastina y decarbazina (ABVD, por sus siglas en inglés: 25 mg/m<sup>2</sup> de adriamicina, 10 U/m<sup>2</sup> de bleomicina, 6 mg/m<sup>2</sup> de vinblastina y 375 mg/m<sup>2</sup> de dacarbazina).<sup>19-21</sup> La duración de un ciclo de quimioterapia fue de tres o seis a ocho semanas para los regímenes de BEP o ABVD, respectivamente. El presente estudio fue aprobado por el comité ético de revisión institucional y se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos.

Los pacientes proporcionaron muestras de semen a los 6, 12, 18 y 24 meses después de terminar el último ciclo de quimioterapia. Se determinaron la concentración

\* Traducido de: O'Flaherty C, Hales BF, Chan P, Robaire B. Impact of chemotherapeutics and advanced testicular cancer or Hodgkin lymphoma on sperm deoxyribonucleic acid integrity. *Fertil Steril* 2010;94(4):1374-1379.

espermática, la motilidad progresiva y el porcentaje de formas normales en las muestras frescas, de acuerdo con las guías de la Organización Mundial de la Salud.<sup>12</sup> La concentración espermática y la motilidad se analizaron con análisis seminal computarizado (IVOS; Hamilton Thorne, Beverly, MA). Se evaluó la morfología de 100 espermatozoides por muestra con el uso de la tinción de Diff-Quik (Medion Diagnostics AG, Duedingen, Suiza) y las muestras con 30% o más formas normales se consideraron normales.<sup>12,22</sup> Las muestras de semen se almacenaron a -80° C para la subsecuente evaluación de la calidad de la cromatina espermática. Las muestras de suero matutino se sometieron a análisis para testosterona total, 17 $\beta$ -E2, FSH y LH en el Centro Reproductivo McGill.

#### **Daño en el ADN espermático**

La fragmentación de los filamentos de ácido desoxirribonucleico en los espermatozoides se determinó con el ensayo cometa,<sup>23,24</sup> como se describió anteriormente.<sup>16</sup> Se analizaron 100 células de cada muestra en forma aleatoria. Los resultados se expresaron como el porcentaje de ADN en la cola del cometa (ADN de cola), el largo de la cola (micrómetros) y la extensión de migración (largo/cola de ADN), con el sistema de análisis de imagen KOMET 5.0 (Kinetic Imaging Ltd., Liverpool, Reino Unido).

#### **Análisis estadístico**

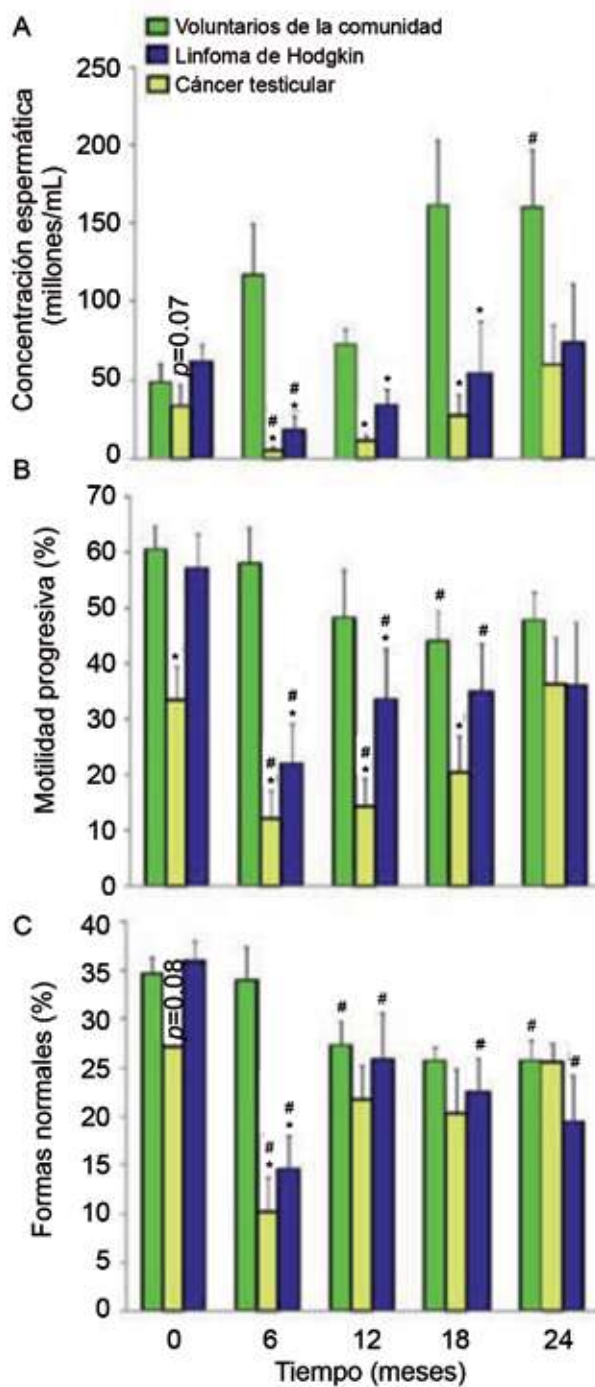
Los análisis estadísticos se realizaron con la paquetería SigmaStat 2.03 (SPSS Inc., Chicago, IL). Los valores del cáncer testicular o el linfoma de Hodgkin se compararon con los valores de control pareados en tiempo (voluntario de la comunidad) con la prueba del orden de Mann-Whitney. Se realizaron comparaciones de diferentes parámetros antes y después de la quimioterapia con una prueba de *t* pareada o prueba de Wilcoxon de rangos pareados, como se especificó. Se determinaron las correlaciones entre los parámetros de análisis seminal con los valores de ADN espermático, las concentraciones hormonales y el volumen testicular, con el coeficiente de correlación de rango de Spearman. La información se presenta como medias del error estándar. Una diferencia se considera significativa cuando el valor de *p* es  $\leq 0.05$ .

## **RESULTADOS**

#### **Análisis seminal**

Antes de la quimioterapia, la concentración espermática y las formas normales mostraron una tendencia hacia la disminución en los pacientes con cáncer testicular, en comparación con el grupo de voluntarios de la comunidad (Figura 1A y 1C). La motilidad progresiva fue significativamente menor en los sujetos con cáncer testicular en comparación con los voluntarios de la comunidad (Figura 1B). En contraste, los parámetros espermáticos de los sujetos con linfoma de Hodgkin no difirieron de aquéllos en los voluntarios de la comunidad. Después de la quimioterapia, las concentraciones espermáticas fueron bajas en ambos grupos de pacientes con cáncer (Figura 1A); 53% (cáncer testicular) y 40% (linfoma de Hodgkin), respectivamente, fueron azoospermicos a los seis meses y 44% (cáncer testicular) y 38% (linfoma de Hodgkin) eran gravemente oligozoospermicos. A los 12 y 18 meses, 50% de los pacientes con cáncer testicular y con linfoma de Hodgkin se había recuperado; 13% de los pacientes con cáncer testicular y 6% de los pacientes con linfoma de Hodgkin continuaron teniendo oligozoospermia en el periodo de 24 meses. A los 24 meses, 60 y 57% de los pacientes con cáncer testicular y con linfoma de Hodgkin, respectivamente, tenía muestras normospermicas. La motilidad progresiva fue significativamente menor en cada momento después de la quimioterapia en comparación con las cifras basales (Figura 1B). La motilidad progresiva se mantuvo baja hasta 18 meses sólo en el grupo de cáncer testicular (Figura 1B); en los pacientes con linfoma de Hodgkin la motilidad progresiva fue similar a la de los voluntarios de la comunidad desde los 18 meses hasta el final del estudio. El porcentaje de espermatozoides con formas normales fue el parámetro menos afectado por la quimioterapia. A los seis meses hubo una disminución significativa en las formas normales, pero desde los 12 meses en adelante las formas normales no difirieron de los voluntarios de la comunidad (Figura 1C).

No hubo diferencias en el volumen seminal entre los grupos durante el estudio (los valores del volumen seminal para los voluntarios de la comunidad fueron 2.0 a 2.5 mL; para los sujetos con cáncer testicular: 1.5 a 2.8 mL; para los pacientes con linfoma de Hodgkin:



**Figura 1.** Parámetros espermáticos en pacientes con cáncer y voluntarios de la comunidad. Voluntarios de la comunidad ( $n = 9-11$ ); pacientes con cáncer testicular ( $n = 8-16$ ); pacientes con linfoma de Hodgkin ( $n = 8-16$ ).

\* Valores significativamente más bajos en comparación con los de voluntarios de la comunidad en cada momento (prueba del orden de Mann-Whitney;  $p \leq 0.05$ ).

# Valores significativamente diferentes en comparación con los registrados a los cero meses en cada grupo (prueba de  $t$  pareada o prueba de Wilcoxon de rangos pareados;  $p \leq 0.05$ ).

1.5 a 1.9 mL). Así, a los 24 meses, los números espermáticos, la motilidad progresiva y las formas normales en pacientes con cáncer no difirieron de aquéllos en los voluntarios sanos.

### Perfil hormonal

Antes de la quimioterapia, los pacientes con cáncer testicular tuvieron concentraciones séricas de FSH elevadas en comparación con los voluntarios de la comunidad (Figura 2A). Hubo un aumento significativo en las concentraciones de FSH y LH en los pacientes con cáncer testicular después del tratamiento, en comparación con los voluntarios de la comunidad (Figura 2A y 2B); estas hormonas se mantuvieron elevadas durante el periodo completo de seguimiento. En los pacientes con linfoma de Hodgkin, sólo se elevaron las concentraciones de FSH a los seis y doce meses, en comparación con los voluntarios de la comunidad o con los valores del inicio para estos pacientes; los valores subsecuentes fueron similares a los de los voluntarios de la comunidad (Figura 2). En forma consistente con los reportes previos,<sup>25</sup> no hubo diferencias significativas en la testosterona total o libre o el  $17\beta$ -E<sub>2</sub> en pacientes con cáncer, en comparación con los voluntarios de la comunidad (información no mostrada).

### Volumen testicular

El volumen testicular en pacientes con cáncer fue menor seis meses después de la quimioterapia, pero sólo estadísticamente diferente de los voluntarios de la comunidad en pacientes con linfoma de Hodgkin (Figura 2C). El volumen testicular tuvo una correlación inversa con la FSH ( $r = -0.35$ ) y LH ( $r = -0.27$ ).

### Daño al ADN espermático

Los pacientes con cáncer tuvieron un elevado daño al ADN antes de la quimioterapia en comparación con los voluntarios de la comunidad (Figura 3). Seis meses después del tratamiento, el daño al ADN espermático fue incluso mayor en comparación con los datos iniciales para cada grupo de cáncer; el daño al ADN se mantuvo alto en las ventanas de tiempo de 18 a 24 meses.

### Correlaciones entre los parámetros seminales, el volumen testicular o las concentraciones hormonales y la integridad del ADN espermático

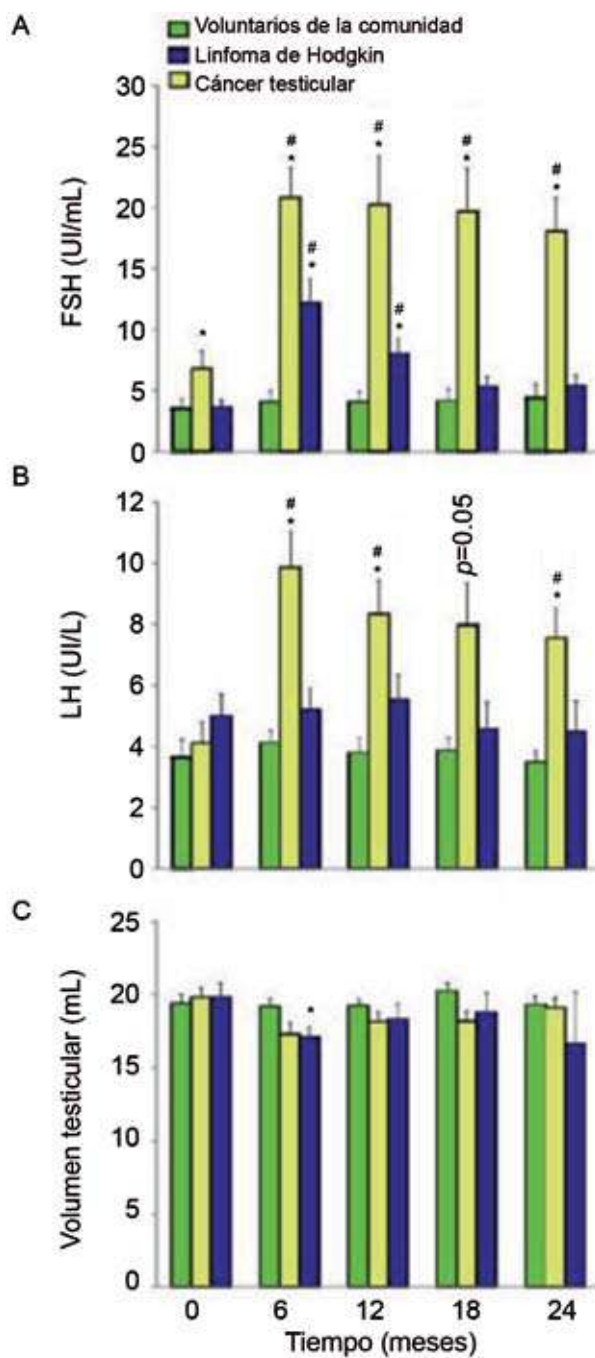
La concentración espermática y la motilidad progresiva se correlacionaron significativamente con los parámetros cometa ( $n = 140$ ). La concentración espermática se correlacionó con el ADN de cola ( $r = -0.40$ ), el largo de la cola ( $r = -0.30$ ) y la extensión de migración ( $r = -0.44$ ).

El conteo espermático total se correlacionó con el ADN de cola ( $r = -0.41$ ), largo de la cola ( $r = -0.30$ ) y la extensión de migración ( $r = -0.43$ ). La motilidad progresiva se correlacionó con el ADN de cola ( $r = -0.24$ ), largo de la cola ( $r = -0.21$ ) y la extensión de migración ( $r = -0.30$ ). En contraste, las formas normales no correlacionaron con los parámetros cometa.

También hubo relación entre las concentraciones hormonales con el análisis espermático y el daño al ADN espermático ( $n = 133$ -140). La concentración de FSH tuvo una correlación positiva con el ADN de cola ( $r = 0.31$ ), el largo de la cola ( $r = 0.25$ ) y la extensión de migración ( $r = 0.38$ ). Las concentraciones de LH se correlacionaron con el ADN de cola ( $r = 0.24$ ), el largo de la cola ( $r = 0.25$ ) y la extensión de migración ( $r = 0.30$ ). Además, la FSH y la LH correlacionaron con la concentración espermática ( $r = -0.47$  y  $r = -0.40$ , respectivamente), la motilidad progresiva ( $r = 0.42$  y  $r = -0.41$ , respectivamente) y las formas normales ( $r = -0.40$  y  $r = -0.29$ , respectivamente). No se correlacionaron las concentraciones séricas de testosterona o estrógeno con los parámetros cometa.

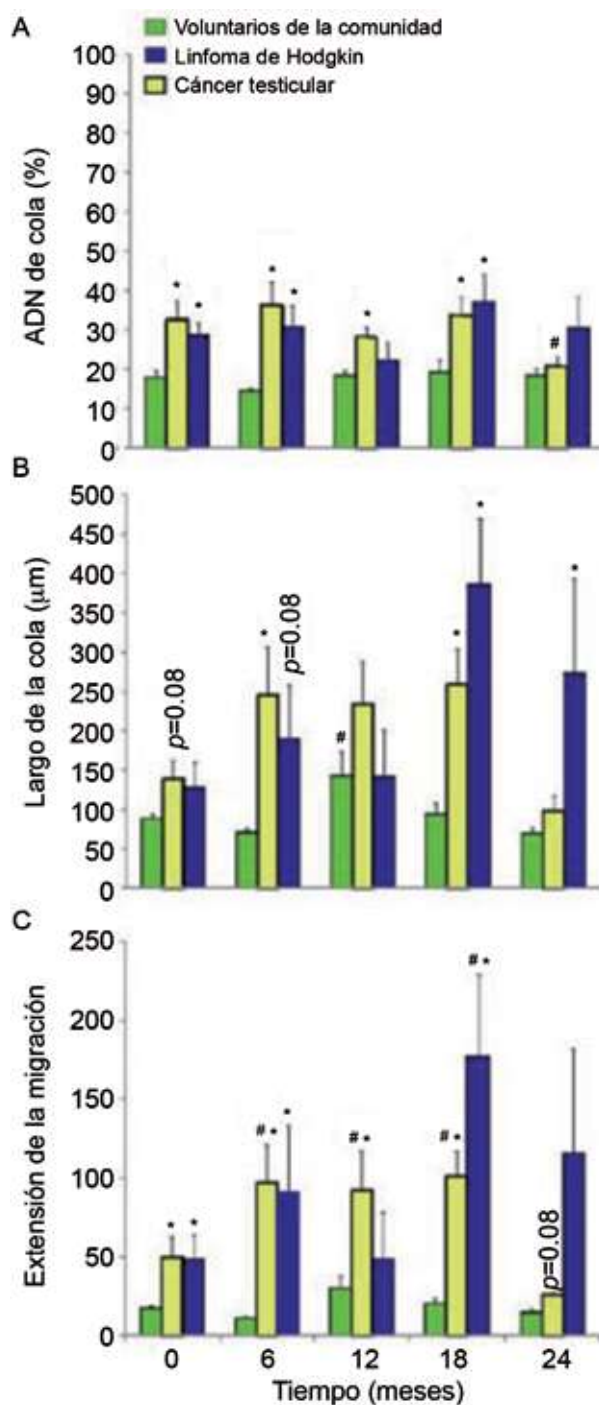
### DISCUSIÓN

En este estudio prospectivo y longitudinal determinamos parámetros seminales, concentraciones hormonales y daño en el ADN espermático en pacientes con cáncer testicular avanzado o linfoma de Hodgkin antes y después de la quimioterapia. Como se describió anteriormente,<sup>16,26</sup> los efectos nocivos en la integridad del ADN espermático se observaron en pacientes con cáncer testicular y en pacientes con linfoma de Hodgkin (Figura 3), incluso antes del inicio de la quimioterapia. El ADN anormal en el material seminal puede alterar la capacidad fértil de estos hombres.



**Figura 2.** Hormona estimulante del folículo, LH y volumen testicular en pacientes con cáncer y voluntarios de la comunidad. **(A)** FSH. **(B)** LH. **(C)** Volumen testicular. Voluntarios de la comunidad ( $n = 6-11$ ); pacientes con cáncer testicular ( $n = 11-13$ ); pacientes con linfoma de Hodgkin ( $n = 6-12$ ).

\* Valores significativamente más bajos en comparación con los voluntarios de la comunidad en cada momento (prueba del orden de Mann-Whitney;  $p \leq 0.05$ ).



**Figura 3.** Daño en el ADN espermático en pacientes con cáncer y voluntarios de la comunidad. Voluntarios de la comunidad ( $n = 8-11$ ); pacientes con cáncer testicular ( $n = 7-13$ ); pacientes con linfoma de Hodgkin ( $n = 4-13$ ).

\* Valores significativamente más bajos en comparación con los de los voluntarios de la comunidad en cada momento (prueba del orden de Mann-Whitney;  $p \leq 0.05$ ).

# Valores significativamente diferentes en comparación con los registrados a los cero meses en cada grupo (prueba de  $t$  pareada o prueba de Wilcoxon de rangos pareados;  $p \leq 0.05$ ).

Antes de la quimioterapia, los pacientes con cáncer testicular tuvieron concentraciones séricas elevadas de FSH, en comparación con los voluntarios de la comunidad. Curiosamente, Petersen y col.<sup>27</sup> reportaron concentraciones elevadas de FSH y mala calidad seminal en pacientes con cáncer testicular antes de la orquidectomía. Este aumento en las concentraciones de FSH en pacientes con cáncer testicular puede deberse a la enfermedad misma y no representar un mecanismo compensatorio después de la extirpación del testículo afectado.

En el presente estudio reportamos que la quimioterapia tuvo un efecto negativo en la función testicular, las concentraciones espermáticas, la motilidad progresiva y las formas normales en pacientes con cáncer desde los seis meses después de la quimioterapia, en comparación con los valores iniciales. Estos hallazgos concuerdan con los de estudios anteriores.<sup>6,7</sup> Los efectos adversos de la quimioterapia en la función testicular se han demostrado previamente en modelos animales.<sup>8,9,28,29</sup> La exposición de ratas macho a BEP (bleomicina, etopósido y cisplatino) causó degeneración de las células germinales, formación de células gigantes multinucleadas, derrama de células germinales inmaduras en el lumen, vacuolización de las células de Sertoli y aumento en la apoptosis, especialmente de las espermatogonias y los espermatoцитos.<sup>29</sup>

Después de la quimioterapia, las concentraciones de FSH y LH estaban elevadas en ambos grupos, en comparación con los voluntarios de la comunidad. Se han reportado concentraciones elevadas de FSH en forma persistente en pacientes con cáncer después de la radioterapia o quimioterapia, el aumento en las concentración de FSH puede indicar disociación del epitelio germinal en pacientes con cáncer testicular.<sup>30-33</sup> Las ratas expuestas a dosis equivalentes en humanos de BEP tuvieron concentraciones aumentadas de FSH y LH,<sup>34</sup> lo que sugiere que el tratamiento mismo contribuye con la interrupción de la función testicular. En nuestros grupos de pacientes con cáncer, las concentraciones de FSH se mantuvieron altas hasta 24 meses después de la quimioterapia, lo que indica que el epitelio germinal aún estaba dañado, incluso después de dos años de exposición a los medicamentos. La correlación negativa entre la FSH y el daño al ADN espermático, las bajas concentraciones espermáticas, la motilidad progresiva y las formas normales es otro

indicador de la insuficiencia del epitelio germinal. Desafortunadamente, los mecanismos responsables de estos cambios aún se desconocen; con base en la observación que el tratamiento con BEP afecta las células de Sertoli de la rata,<sup>29</sup> se pretende especular que este tipo de célula testicular puede ser responsable, en parte, por la disfunción del epitelio germinal. Después de la quimioterapia, el aumento de la LH en pacientes con cáncer con concentraciones normales de testosterona (Figura 2 e información no mostrada) sugiere una leve insuficiencia de las células de Leydig.<sup>25,30</sup>

Un estudio previo<sup>7</sup> efectuado con pacientes con cáncer testicular reportó una recuperación de los parámetros espermáticos en el periodo de 12 a 24 meses después de la quimioterapia. La información que se muestra en la Figura 1 coincide con estos hallazgos. Sin embargo, a pesar de la mejoría o incluso la normalización del análisis seminal estándar, el daño del ADN espermático se mantuvo elevado en los pacientes con cáncer, en comparación con los voluntarios de la comunidad. Con base en esta información y estudios en animales, es claro que los quimioterapéuticos administrados para tratar el cáncer testicular tienen un profundo efecto negativo en la producción de espermatozoides normales.

En humanos, la producción y la maduración de los espermatozoides toman aproximadamente 70 días.<sup>35</sup> Por tanto, seis meses después de la quimioterapia hay nuevos espermatozoides presentes en el semen. Así, aunque se restablece la espermatogénesis, las células primordiales de las espermatogonias están afectadas; en consecuencia, los espermatozoides que se han producido pueden no ser normales y tener riesgo de producir una progenie anormal. Se forman aductos químicamente estables del ADN en los testículos de los pacientes con cáncer tratados con agentes alquilantes como el cisplatino<sup>36</sup> y la dacarbazina.<sup>37</sup>

Especulamos que la persistencia de estos aductos del ADN pueden ser responsables de la formación de la fragmentación de la cadena de ADN durante la producción espermática en pacientes con cáncer.

Se requiere mayor investigación para descubrir los mecanismos que rigen la alteración de las células primordiales de las espermatogonias después de la quimioterapia. Las ratas macho expuestas a un tratamiento con BEP similar al administrado en humanos recuperaron



la función (conteo espermático y morfología normales) nueve semanas después del tratamiento, momento en el que había ocurrido un ciclo completo de espermatogénesis (52 días) y tránsito epididimario (8 días). Sin embargo, cuando estos hombres se parearon con mujeres sanas hubo un aumento en las pérdidas en la preimplantación (ovocitos liberados sin fertilizar o muerte embrionaria temprana), lo que claramente muestra que las anomalías persistieron en el genoma paterno.<sup>29</sup> En los espermatozoides de pacientes con cáncer testicular y linfoma de Hodgkin se encontró un aumento en la aneuploidía asociada con la quimioterapia.<sup>38</sup> Estos hallazgos y el elevado y persistente daño en el ADN de los espermatozoides de pacientes con cáncer testicular y linfoma de Hodgkin después de la quimioterapia que se reportan aquí indican que los espermatozoides de los supervivientes de cáncer tratados con quimioterapia pueden tener un riesgo significativo de desenlaces reproductivos adversos. Los profesionales de la salud deben estar conscientes de estos riesgos potenciales y aconsejar a estos pacientes acerca de la preservación de la fertilidad en etapas tempranas del tratamiento contra el cáncer, antes del inicio de la quimioterapia.

Los pacientes con linfoma de Hodgkin tienen un daño más alto y variable en el ADN espermático a los 24 meses, en comparación con el grupo de cáncer testicular. Esto podría deberse al tratamiento más agresivo al que deben someterse los pacientes con linfoma de Hodgkin. Previamente se encontró una situación similar.<sup>38</sup> La frecuencia de aneuploidías fue más alta en los pacientes con linfoma de Hodgkin, en comparación con los pacientes con cáncer testicular después de la quimioterapia; el tratamiento contra el linfoma de Hodgkin tuvo un efecto nocivo importante en la meiosis que persistió, incluso, 24 meses.<sup>38</sup> Así, después de la quimioterapia, la función testicular no se recuperó por completo, aunque el análisis seminal fue normal. A menudo se aconseja a los supervivientes de cáncer que intenten procrear sólo 12 a 18 meses después de la terapia citotóxica contra el cáncer, para permitir una máxima recuperación de la función espermatogénica y minimizar los potenciales desenlaces reproductivos adversos debido a una alta tasa de aneuploidía espermática en el primer año después de la quimioterapia.<sup>38,39</sup> Este estudio demuestra que el daño al ADN espermático en los supervivientes de cáncer

después de la quimioterapia puede durar, incluso, 24 meses. Deben realizarse investigaciones enfocadas en los efectos a largo plazo de la quimioterapia en la capacidad reproductiva de los hombres y estudios a largo plazo acerca de los potenciales defectos en la progenie, para determinar la seguridad del material espermático producido después de la quimioterapia y establecer nuevas herramientas para el pronóstico.

En conclusión, los pacientes con cáncer testicular y con linfoma de Hodgkin tienen insuficiencia de la función testicular persistente después de la quimioterapia, como se evidenció con el perfil hormonal anormal y el hallazgo de un daño significativo en el ADN espermático. Esta población de hombres jóvenes con cáncer tiene riesgo de volverse subfétil o infértil después de la quimioterapia y puede procrear hijos sin conocer las potenciales consecuencias negativas del ADN espermático dañado en su progenie. Además, es de gran importancia explorar nuevas estrategias terapéuticas para reducir el daño causado por los protocolos de quimioterapia actuales en la reproducción masculina.

*Traducción: Delia Bernal Cerrillo*

## REFERENCIAS

1. Garner MJ, Turner MC, Ghadirian P, Krewski D. Epidemiology of testicular cancer: an overview. *Int J Cancer* 2005;116:331-339.
2. Bray F, Richiardi L, Ekbom A, Pukkala E, et al. Trends in testicular cancer incidence and mortality in 22 European countries: continuing increases in incidence and declines in mortality. *Int J Cancer* 2006;118:3099-3111.
3. Walsh TJ, Grady RW, Porter MP, Lin DW, Weiss NS. Incidence of testicular germ cell cancers in U.S. children: SEER program experience 1973 to 2000. *Urology* 2006;68:402-405.
4. Huddart RA, Birtle AJ. Recent advances in the treatment of testicular cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2005;5:123-138.
5. Kopp HG, Kuczyk M, Classen J, Stenzl A, et al. Advances in the treatment of testicular cancer. *Drugs* 2006;66:641-659.
6. Petersen PM, Hansen SW. The course of long-term toxicity in patients treated with cisplatin-based chemotherapy for non-seminomatous germ-cell cancer. *Ann Oncol* 1999;10:1475-1483.
7. Gandini L, Sgro P, Lombardo F, Paoli D, et al. Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. *Hum Reprod* 2006;21:2882-2889.
8. Bieber AM, Marcon L, Hales BF, Robaire B. Effects of chemotherapeutic agents for testicular cancer on the male rat reproductive system, spermatozoa, and fertility. *J Androl* 2006;27:189-200.

9. Vaisheva F, Delbes G, Hales BF, Robaire B. Effects of the chemotherapeutic agents for non-Hodgkin lymphoma, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP), on the male rat reproductive system and progeny outcome. *J Androl* 2007;28:578-587.
10. Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2004;81:1289-1295.
11. Marchetti F, Wyrobek AJ. Mechanisms and consequences of paternally-transmitted chromosomal abnormalities. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005;75:112-129.
12. World Health Organization. Laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: The Press Syndicate of the University of Cambridge, 1987:3-27.
13. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999;14:1039-1049.
14. Spano M, Bonde JP, Hjollund HI, Kolstad HA, et al. Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril* 2000;73:43-50.
15. Payne JF, Raburn DJ, Couchman GM, Price TM, et al. Redefining the relationship between sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay and outcomes of assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2005;84:356-364.
16. O'Flaherty C, Vaisheva F, Hales BF, Chan P, Robaire B. Characterization of sperm chromatin quality in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients prior to chemotherapy. *Hum Reprod* 2008;23:1044-1052.
17. Williams SD, Birch R, Einhorn LH, Irwin L, et al. Treatment of disseminated germ-cell tumors with cisplatin, bleomycin, and either vinblastine or etoposide. *N Engl J Med* 1987;316:1435-1440.
18. Nichols CR, Catalano PJ, Crawford ED, Vogelzang NJ, et al. Randomized comparison of cisplatin and etoposide and either bleomycin or ifosfamide in treatment of advanced disseminated germ cell tumors: an Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and Cancer and Leukemia Group B. Study. *J Clin Oncol* 1998;16:1287-1293.
19. Santoro A, Bonadonna G. Prolonged disease-free survival in MOPP-resistant Hodgkin's disease after treatment with adriamycin, bleomycin, vinblastine and dacarbazine (ABVD). *Cancer Chemother Pharmacol* 1979;2:101-105.
20. Canellios GP, Anderson JR, Propert KJ, Nissen N, et al. Chemotherapy of advanced Hodgkin's disease with MOPP, ABVD, or MOPP alternating with ABVD. *N Engl J Med* 1992;327:1478-1484.
21. Andrieu JM, Colonna P. Are ABVD and MOPP/ABV truly equivalent for treating Hodgkin's disease at advanced stages? *J Clin Oncol* 1998;16:2283b.
22. Kruger TF, Ackerman SB, Simmons KF, Swanson RJ, et al. A quick, reliable staining technique for human sperm morphology. *Arch Androl* 1987;18:275-277.
23. Haines G, Marples B, Daniel P, Morris I. DNA damage in human and mouse spermatozoa after *in vitro*-irradiation assessed by the comet assay. *Adv Exp Med Biol* 1998;444:79-91.
24. Codrington AM, Hales BF, Robaire B. Exposure of male rats to cyclophosphamide alters the chromatin structure and basic proteome in spermatozoa. *Hum Reprod* 2007;22:1431-1442.
25. Howell SJ, Shalet SM. Testicular function following chemotherapy. *Hum Reprod Update* 2001;7:363-369.
26. Kobayashi H, Larson K, Sharma RK, Nelson DR, et al. DNA damage in patients with untreated cancer as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril* 2001;75:469-475.
27. Petersen PM, Skakkebaek NE, Vistisen K, Rorth M, Giwercman A. Semen quality and reproductive hormones before orchiectomy in men with testicular cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:941-947.
28. Delbes G, Hales BF, Robaire B. Effects of the chemotherapy cocktail used to treat testicular cancer on sperm chromatin integrity. *J Androl* 2007;28:241-249.
29. Marcon L, Hales BF, Robaire B. Reversibility of the effects of subchronic exposure to the cancer chemotherapeutics bleomycin, etoposide, and cisplatin on spermatogenesis, fertility, and progeny outcome in the male rat. *J Androl* 2008;29:408-417.
30. Howell SJ, Radford JA, Ryder WD, Shalet SM. Testicular function after cytotoxic chemotherapy: evidence of Leydig cell insufficiency. *J Clin Oncol* 1999;17:1493-1498.
31. Gerl A, Muhlthaler D, Hansmann G, Mraz W, Hiddemann W. The impact of chemotherapy on Leydig cell function in long term survivors of germ cell tumors. *Cancer* 2001;91:1297-1303.
32. Spermon JR, Ramos L, Wetzels AM, Sweep CG, et al. Sperm integrity pre-and post-chemotherapy in men with testicular germ cell cancer. *Hum Reprod* 2006;21:1781-1786.
33. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:12-17.
34. Delbes G, Chan D, Pakarinen P, Trasler JM, et al. Impact of the chemotherapy cocktail used to treat testicular cancer on the gene expression profile of germ cells from male brown-Norway rats. *Biol Reprod* 2008;80:320-327.
35. Heller CG, Clermont Y. Spermatogenesis in man: an estimate of its duration. *Science* 1963;140:184-186.
36. Poirier MC, Reed E, Litterst CL, Katz D, Gupta-Burt S. Persistence of platinum-amine-DNA adducts in gonads and kidneys of rats and multiple tissues from cancer patients. *Cancer Res* 1992;52:149-153.
37. van Delft JHM, van den Ende AMC, Keizer HJ, Ouwerkerk J, Baan RA. Determination of N7-methylguanine in DNA of white blood cells from cancer patients treated with dacarbazine. *Carcinogenesis* 1992;13:1257-1259.
38. Tempest HG, Ko E, Chan P, Robaire B, et al. Sperm aneuploidy frequencies analysed before and after chemotherapy in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients. *Hum Reprod* 2007;23:251-258.
39. Frias S, Van HP, Meistrich ML, Lowe XR, et al. NOVP chemotherapy for Hodgkin's disease transiently induces sperm aneuploidies associated with the major clinical aneuploidy syndromes involving chromosomes X, Y, 18, and 21. *Cancer Res* 2003;63:44-51.