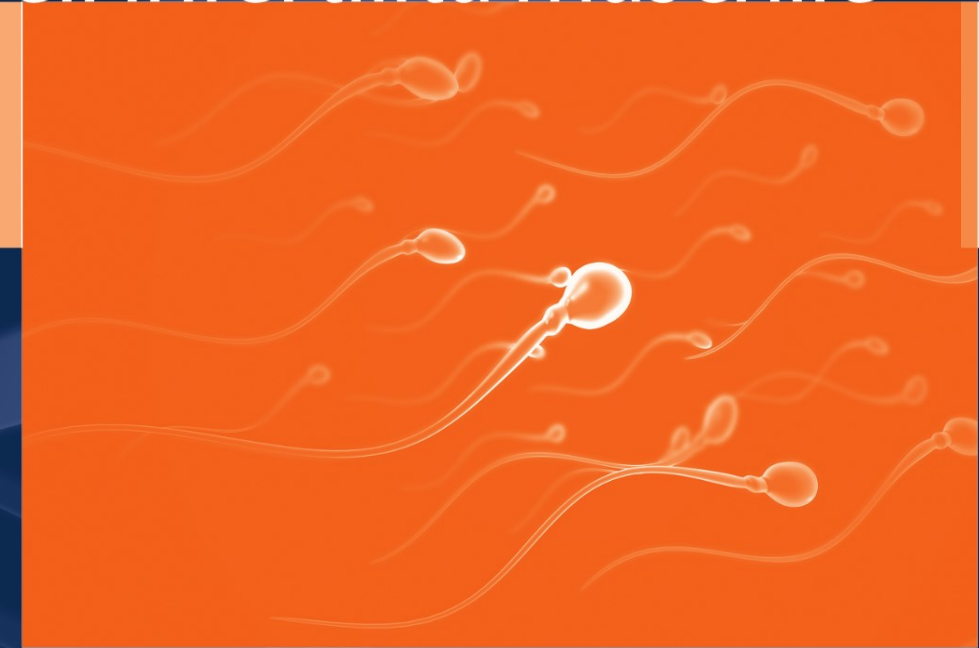


Salvatore Raimondo
Andrea Di Luccio
Valerio Ventruto

La genetica nell'infertilità maschile



La genetica nell'infertilità maschile

Salvatore Raimondo • Andrea Di Luccio •
Valerio Ventruto

La genetica nell'infertilità maschile

Con CD-Rom

Presentazione a cura di
Guglielmo Bonanni

 Springer

SALVATORE RAIMONDO
Medico Andrologo
S.Me.I. Fertility Center
Istituto Diagnostico di Ricerca
per la Riproduzione Umana
Gragnano
Napoli

ANDREA DI LUCCIO
ICT Senior Advisor
Healthcare Datawarehouses
Specialist
Azienda Sanitaria
Regionale del Molise
Campobasso

VALERIO VENTRUTO
Medico Genetista
Istituto Internazionale
di Genetica e Biofisica
Consiglio Nazionale per la Ricerca (CNR)
Napoli

ISBN 978-88-470-0776-5
e-ISBN 978-88-470-0777-2

Springer-Verlag fa parte di Springer Science+Business Media
springer.com
© Springer-Verlag Italia 2008

Quest'opera è protetta dalla legge sul diritto d'autore. Tutti i diritti, in particolare quelli relativi alla traduzione, alla ristampa, all'utilizzo di illustrazioni e tabelle, alla citazione orale, alla trasmissione radiofonica o televisiva, alla registrazione su microfilm o in database, o alla riproduzione in qualsiasi altra forma (stampata o elettronica) rimangono riservati anche nel caso di utilizzo parziale. La riproduzione di quest'opera, anche se parziale, è ammessa solo ed esclusivamente nei limiti stabiliti dalla legge sul diritto d'autore, ed è soggetta all'autorizzazione dell'editore. La violazione delle norme comporta le sanzioni previste dalla legge.

L'utilizzo in questa pubblicazione di denominazioni generiche, nomi commerciali, marchi registrati, ecc. anche se non specificatamente identificati, non implica che tali denominazioni o marchi non siano protetti dalle relative leggi e regolamenti.

Responsabilità legale per i prodotti: l'editore non può garantire l'esattezza delle indicazioni sui dosaggi e l'impiego dei prodotti menzionati nella presente opera. Il lettore dovrà di volta in volta verificarne l'esattezza consultando la bibliografia di pertinenza.

Copertina: Simona Colombo, Milano
Progetto grafico e impaginazione: Graphostudio, Milano
Stampa: Arti Grafiche Nidasio, Assago (MI)

Stampato in Italia
Springer-Verlag Italia S.r.l., Via Decembrio 28, 20137 Milano

L'osservazione microscopica degli elementi riesce impressionante; si vedono rincorrersi l'un l'altro, volgere or in una, or in un'altra direzione, ora fermarsi per brevi momenti e poi, di colpo, sotto uno scatto della coda contrattile, spingersi avanti finché colle teste diano di cozzo contro un ostacolo, sul quale insistono con movimento di succhiello. Si riesce, per tal modo, a credere di avere sott'occhio delle forme vive, piccole, ma autonome e chiamarle così "animaletti seminali".

Johan Ham
Scenziato di Leiden
anno 1677

Presentazione

Ho accettato con vero piacere l'invito di presentare questo volume per due motivi: da una parte, per il vincolo di amicizia e stima che mi lega a uno degli Autori, il Dr. Salvatore Raimondo, di cui ho potuto apprezzare, già negli anni in cui era mio studente, la disponibilità, l'interesse per i problemi legati all'andrologia e l'entusiasmo per la vita di laboratorio mentre mettevamo a punto le prime metodiche sul liquido seminale. Dall'altra, perché ritengo, come endocrinologo-andrologo, che il libro sarà di estrema utilità e attualità sia per gli "addetti ai lavori", sia per chi intende approfondire l'argomento "infertilità maschile" in termini di diagnosi e terapia.

Bisogna riconoscere che l'andrologia è una disciplina spesso trascurata o affrontata solo marginalmente sia nel Corso di Laurea di Medicina, che nelle Scuole di Specializzazione. Ne consegue che, ai futuri medici, vengono a mancare le basi per un corretto approccio con il paziente affetto da problematiche andrologiche. I canali di informazione sono dunque costituiti quasi esclusivamente da convegni o congressi con indirizzo andrologico e/o inerenti alla fisiopatologia della riproduzione, tenuti all'interno delle Società scientifiche. A oggi, infatti, non sono disponibili veri e propri trattati recenti di Andrologia, se non legati a problematiche specifiche.

Ritengo sia di fondamentale importanza un corretto approccio diagnostico al paziente infertile, poiché troppo spesso si ricorre a tecniche di fecondazione assistita senza aver prima cercato di individuare e, se possibile, correggere o migliorare la capacità fecondante del partner.

Ricorrere a tali metodi a causa di un'infertilità maschile può essere utile ed efficace, ma realizza una sostanziale ingiustizia, agendo terapeuticamente su una donna sana, anziché curare il maschio malato, obiettivo che rappresenta la principale finalità di questa disciplina.

La diagnostica dell'infertilità maschile negli ultimi anni è sicuramente avanzata grazie agli studi che hanno permesso una conoscenza più ampia del complesso meccanismo della spermatogenesi, ma hanno anche dimostrato che la causa di alterazioni dei parametri seminali, in un'elevata percentuale di pazienti dispermici, è la conseguenza di alterazioni genetiche.

Tale aspetto è illustrato e approfondito in maniera eccellente in questo volume, con il prezioso apporto scientifico del Prof. Valerio Ventruto, la cui esperienza nel campo della genetica è ampiamente conosciuta.

Andrea Di Luccio, programmatore di GENUS, clinical-database di oltre 6.000 disordini genetici, ha fornito il materiale necessario alla realizzazione del CD-Rom allegato dove, per ciascuna delle centinaia di malattie raggruppate in *short reports*, è anche possibile l'aggiornamento conoscitivo in tempo reale.

Certo che questo volume costituirà un valido strumento di consultazione e aggiornamento, esprimo un particolare ringraziamento agli Autori per il loro impegno culturale e scientifico.

*Professor Guglielmo Bonanni
Cattedra di Endocrinologia
Università degli Studi di Padova
Padova*

Prefazione

Allo scopo di contribuire a colmare un vuoto conoscitivo per chi opera nel settore della riproduzione medicalmente assistita, è sembrato utile agli Autori trattare le complesse e non del tutto conosciute cause genetiche dell'infertilità maschile.

Nel libro gli Autori affrontano due specifici aspetti della materia: il primo concerne la *genetica dell'infertilità maschile*, e fa richiamo alle molteplici cause cromosomiche e geniche e alle possibili indagini clinico-diagnostiche; il secondo prende in considerazione il problema dell'*infertilità nelle malattie genetiche*. A tale proposito nell'allegato CD-Rom sono presentate in *short report* le malattie genetiche che comportano infertilità. Il materiale è stato tratto dal database GENUS e comprende molte centinaia di patologie aventi differenti quadri clinici e non univoci modelli di trasmissione ereditaria. Il programma utilizzato consente anche il collegamento sia con GENUS sia con OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*), il che permette di avere in tempo reale l'aggiornamento sulle malattie ricercate.

L'affinarsi sempre più specialistico della diagnostica genetica, fa rivedere in modo meno pessimistico quadri clinici che sembravano, fino a poco tempo addietro, senza speranza per la capacità riproduttiva del paziente. Nuove speranze sono oggi prospettate per alcuni pazienti portatori di particolari cromosomopatie. Ad esempio, la sindrome di Klinefelter comincia a non essere più annoverata tra le sterilità del tutto incurabili. Lo stesso, per altro verso, dicasi per alcune infertilità di causa genica.

Gli Autori infine hanno voluto richiamare l'attenzione del medico specialista su un problema spesso poco o nulla considerato, ma che merita invece la massima attenzione. Nella fecon-

dazione assistita ha importanza pratica conoscere *a priori*, con la consulenza genetica, il rischio di trasmettere al nascituro un carattere genetico patologico (per malattia o malformazione *prevedibile*, ma non prevista). In specifici casi l'omissione in tal senso potrebbe fare ritenere il medico colpevole di negligenza od omissione.

Gli Autori

Indice

Capitolo 1

Concetti di base e classificazione	1
1.1 Introduzione	1
1.2 Significato di infertilità e di sterilità	2
1.3 Classificazione delle infertilità maschili	3

Capitolo 2

Brevi richiami all'anatomia e alla fisiopatologia	5
2.1 Caratteri normali e patologici del liquido spermatico	6
2.2 Anomalie strutturali e funzionali degli spermatozoi	14
2.3 DNA danneggiato e frammentato	16
2.4 Terminologia	17
2.5 Crioconservazione degli spermatozoi	22
2.6 Inseminazione artificiale	22
2.7 Tecnica ICSI	22

Capitolo 3

Cause cromosomiche dell'infertilità di coppia	25
3.1 Anomalie dei cromosomi sessuali maschili	26
3.1.1 Sindrome di Klinefelter	26
3.1.2 Maschio XX	28
3.1.3 Maschio XYY	28
3.1.4 Anomalie strutturali del cromosoma Y	28
3.1.5 Disordini numerici più rari	29

3.1.6 Polimorfismi del cromosoma Y	29
3.2 Anomalie dei cromosomi sessuali femminili	30
3.2.1 Sindrome di Turner	30
3.2.2 Sindrome del triplo X (47,XXX).....	30
3.2.3 Sindrome del tetra X e del penta X.....	31
3.3 Anomalie dei cromosomi non sessuali	31
3.3.1 Traslocazioni	31
3.3.2 Inversioni pericentriche e paracentriche	33
3.3.3 Varianti eterocromatiche polimorfiche	33

Capitolo 4

Cause geniche dell'infertilità maschile	35
4.1 Principali mutazioni geniche dell'infertilità maschile.....	36
4.2 Infertilità da microdelezioni del cromosoma Y (microdelezioni AZF, <i>Azoospermia Factor</i>)	38
4.3 Sindrome di Del Castello (<i>Sertoli Cell-Only Syndrome</i>)	39
4.4 Sindromi da deficit della steroidogenesi	39
4.5 Iperprolattinemia	39
4.6 Disgenesia testicolare (<i>Testicular Dysgenesis Syndrome, TDS</i>)	40
4.7 Criptorchidismo.....	40
4.8 Varicocele.....	42
4.9 Torsione del funicolo	44
4.10 Ipospadi e altre rare anomalie dei genitali esterni	44
4.11 Anorchia congenita.....	45
4.12 Pseudoermafroditismi.....	45
4.13 <i>Sex reversal</i>	45
4.14 Pubertà ritardata	46
4.15 Pubertà precoce	46
4.16 Ipogonadismi ipogonadotropi e ipergonadotropi	47
4.17 Ovaio policistico (OPC).....	47

Capitolo 5**Cause non genetiche dell'infertilità maschile** 49**5.1** Infertilità escretorie 49**5.2** Infertilità da infezioni 50**5.3** Infertilità autoimmuni 50**5.4** Infertilità da esposizione ad agenti tossici
e teratogeni 51**5.5** Cancro del testicolo 52**Capitolo 6****Qualche riflessione sulla fecondazione assistita** 53**Capitolo 7****Consulenza genetica** 55**Bibliografia** 57**Indice analitico** 63**Contenuto del CD** 67

Collaboratori

ANTONIO L. BORRELLI
Centro di Diagnosi Prenatale
Dipartimento di Scienze Ginecologiche,
Ostetriche e della Riproduzione
II Università degli Studi di Napoli
Napoli

FELICE CUOMO
Settore di Biologia Molecolare
Laboratorio Analisi Cliniche Gentile
Gagnano, Napoli

GIOVANNA DE FEO
Settore Citogenetica
Laboratorio Analisi Cliniche Gentile
Gagnano, Napoli

TOMMASO GENTILE
Laboratorio Analisi Cliniche Gentile
Gagnano, Napoli

JOHN GUIDA
Servizio di Patologia della Riproduzione
Medica Futura
Pompei, Napoli

STEFANIA IACCARINO
Centro Mediterraneo di Fecondazione Assistita
Napoli

MIRELLA IACCARINO
Centro Mediterraneo di Fecondazione Assistita
Napoli

NADIA PIACENTINI
Centro di Analisi Mediche "A. Guarino"
Avellino

TERRYANN SPAGNUOLO
Divisione di Patologia Ostetrica e Ginecologica
Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica
Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma
Roma

MARIALUISA VENTRUTO
Laboratorio di Genetica
Azienda Ospedaliera S. Giuseppe Moscati
Avellino

1 Concetti di base e classificazione

■ 1.1 Introduzione

In numerose malattie genetiche si riscontrano difetti anatomo-funzionali dell'apparato riproduttivo di entrambi i sessi. Nel Clinical database GENUS (www.genusonline.org) le patologie del gruppo indicato come “*genital disorders*” sono circa 900, in associazione sindromica o come disordini isolati. Le cause dell'infertilità maschile sono qui trattate sia come patologie dovute a specifiche mutazioni geniche o cromosomopatie (“genetica nell'infertilità”), sia come disordini che fanno parte di particolari sindromi genetiche (“infertilità nelle malattie genetiche”).

L'infertilità maschile ha infatti eziologie complesse, dato che sono numerosi i fattori che intervengono nella maturazione e nella conservazione della funzione riproduttiva.

Le cause di molte infertilità maschili e femminili sono state da diversi anni riconosciute nelle anomalie numeriche e strutturali dei cromosomi sessuali e degli autosomi. Altri fattori sono imputabili a difetti del controllo ormonale a cui partecipano il testicolo, l'ipofisi e l'ipotalamo. I disordini di questa coordinata rete funzionale nell'uomo si traducono spesso in una disfunzione testicolare e quindi in una ridotta, o assente, spermatogenesi.

Altri fattori che inducono infertilità con meccanismi differenti sono il varicocele, il criptorchidismo e le affezioni delle vie escrettrici del liquido seminale (epididimi, prostata, vescicole seminali, deferenti). Non vanno comunque sottovalutati molti fattori esterni, quali le infezioni acute e croniche dell'apparato urogenitale, gli agenti chimici e fisici, le particolari attività lavorative e lo stile di vita.

È stato già da tempo dimostrato che l'eziologia più frequente e anche meglio studiata della infertilità maschile è genetica. Si riconoscono a questo riguardo due principali gruppi di fattori genetici: le “cause cromosomiche” e le “cause genetiche propriamente dette” (cioè non cromosomiche, ma dovute a mutazioni di singoli geni). Nella trattazione di queste cause si farà natural-

mente richiamo anche ai fattori non genetici, in quanto tutti i processi morbosi sono sempre la risultante dell'associazione di fattori genetici e ambientali.

■ 1.2 Significato di infertilità e di sterilità

Nelle coppie in età fertile, che non hanno sofferenze organiche o funzionali di organi o apparati, la probabilità di concepire spontaneamente si ritiene che sia del 20% a ogni ciclo e, entro un anno, superiore all'80%.

Una coppia è definita "infertile" quando, dopo un anno (o due, secondo altre stime) di regolari rapporti non protetti, non abbia ottenuto concepimenti. L'infertilità, intesa come incapacità o difficoltà alla procreazione, si riscontra in Europa nel 15% delle coppie in età riproduttiva; essa ha molteplici cause eziologiche, attribuibili in eguale misura a difetti femminili o maschili [1]. Diversa dall'infertilità è la "sterilità" o infecondità, che definisce l'impossibilità assoluta alla procreazione. I due termini non sono quindi sinonimi, in quanto la sterilità è la totale incapacità riproduttiva. Ad esempio: l'ostruzione bilaterale delle tube può essere causa di infertilità, mentre l'assenza dell'utero o delle ovaie è causa costante di sterilità; la sindrome di Swyer induce sterilità, mentre nella sindrome di Kartagener si può avere infertilità; una oligozoospermia, anche se di grado severo, è causa di infertilità, mentre l'azoospermia comporta, nella maggioranza dei casi, sterilità; le azoospermie escretorie o ostruttive possono però essere causa di sola infertilità, in quanto suscettibili di correzione. Secondo una diversa definizione, la sterilità è l'incapacità di concepire dopo un anno di rapporti sessuali regolari e non protetti, mentre l'infertilità si riferirebbe a un difetto dell'annidamento o dello sviluppo dell'embrione fino a quando il feto è vitale.

Usare il termine "sterilità di coppia" nei casi di non avvenuto concepimento dopo un anno di normale vita sessuale, non è concettualmente corretto se non è stata dimostrata sterilità in uno dei coniugi. Sarebbe quindi preferibile il termine di "infertilità di coppia".

Pur trattandosi di patologie separate, che rientrano nel dominio specialistico rispettivamente degli andrologi e dei ginecologi, l'infertilità di uno dei coniugi deve essere sempre considerata nel contesto dell'infertilità di coppia, in considerazione della comunità decisionale che i coniugi assumono nel momento in cui viene intrapreso un programma di fecondazione assistita. Il presente lavoro è indirizzato principalmente all'infertilità maschile; non mancheranno però, per i motivi ora ricordati, richiami anche ad alcune cause della infertilità femminile.

■ 1.3 Classificazione delle infertilità maschili

Una classificazione eziologica esauriente delle infertilità maschili non è agevole, in quanto sono spesso presenti cause diverse e associate. In base ai fattori presi in considerazione, sono state quindi proposte molte classificazioni.

Una classificazione degli ipogonadismi, sia maschili che femminili, tiene conto della compromissione ipofisaria, distinguendoli quindi in ipogonadotropi e ipergonadotropi.

Una classificazione è stata proposta in base alla sede del difetto, per cui le infertilità maschili sono state raggruppate come segue:

- *pre-testicolari* (comprendenti le cause disgenetiche, neuroendocrine, quelle da ipogonadismo ipogonadotropo secondario a disfunzioni ipotalamo-ipofisarie; la più conosciuta è la sindrome di Kallmann);
- *testicolari* (ipogonadismi primitivi ipergonadotropi, da disfunzioni della componente interstiziale o tubulare del testicolo);
- *post-testicolari* o urogenitali (dovute al varicocele, alle ostruzioni o all'agenesia delle vie seminali, alle infezioni acute e croniche dell'apparato uro-genitale).

Una seconda classificazione differenzia le infertilità maschili in “secreto-rie” ed “escretorie”.

Le prime sono molto più frequenti e dovute alla ridotta o assente produzione dei gameti; rientrano in queste le ipospermatogenesi da ridotta produzione, quelle dovute ad arresto maturativo e la sindrome delle sole cellule di Sertoli.

Le infertilità escretorie sono dovute a ostruzione delle vie escretrici spermatiche. Non sono rari i casi in cui siano presenti entrambi i difetti, come, ad esempio, nelle oligozoospermie epididimali.

Una terza classificazione tiene conto dei fattori eziologici, per cui si considerano le infertilità da cause endocrine, cromosomiche, geniche, tossico-infettive, psicogene, ecc. Accade però molto spesso che la causa eziologica non venga riconosciuta. In questi casi si usa parlare di “infertilità idiopatiche”, termine che nasconde la non conoscenza della loro eziologia. Nelle forme idiopatiche i livelli di testosterone e di LH (*Luteinizing Hormone*) sono in genere normali, mentre possono essere elevati i valori di FSH (*Follicle Stimulating Hormone*).

Viene definita *infertilità fisiologica* quella caratteristica del periodo di vita prepubere; essa ricompare, sotto altra forma, durante il processo di naturale invecchiamento dell'uomo, in cui si assiste alla graduale riduzione della spermatogenesi accompagnata da un ridotto volume del liquido seminale. In età senile si osserva, a livello cito-istologico, l'aumento di cellule germinali degenerate, una sclerosi dei tubuli seminiferi e l'addensamento della tunica. Le cellule di Leydig subiscono una progressiva riduzione, mentre aumentano i valori di LH e FSH, parallelamente alla riduzione degli androgeni. In sintesi, la senescenza è un processo fisiologico in cui compaiono progressivamente molte delle caratteristiche anatomo-funzionali proprie degli ipogonadismi ipergonadotropi e che, se osservate in età giovanile, vengono definite come patologiche.

2

Brevi richiami all'anatomia e alla fisiopatologia

Come si è detto, l'infertilità maschile ha eziologie complesse. La capacità riproduttiva è controllata da un bilanciato sistema ormonale costituito dall'ormone ipotalamico GnRH (*Gonadotropin-Releasing Hormone*), dagli ormoni ipofisari LH (*Luteinizing Hormone*) e FSH (*Follicle-Stimulating Hormone*) e dagli ormoni testicolari androgeni. Ogni disfunzione che interessi questa complessa rete endocrina può comportare difetti testicolari e alterata spermatogenesi. Anche affezioni delle vie escretrici (epididimi, prostata, vescicole seminali), che contribuiscono alla secrezione del liquido seminale, possono causare una riduzione della capacità fertilizzante. Sono stati riconosciuti, inoltre, molti fattori ambientali esterni, quali il calore distrettuale, sostanze chimiche varie e particolari stili di vita.

Il testicolo origina dalla gonade indifferenziata per l'azione determinante del gene SRY. Ha una funzione endocrina in quanto secerne due ormoni, il testosterone (T) e l'ormone antimulleriano (AMH). Il testosterone è un ormone steroideo prodotto dalle cellule interstiziali di Leydig ed è secreto a partire dall'ottava settimana di sviluppo embrionale. Viene convertito in diidrotestosterone (DHT) dall'enzima 5-alfa reduttasi. All'interno delle cellule bersaglio (quelle cioè che devono rispondere alla sollecitazione dell'ormone) sia il T che il DHT si legano a un recettore per gli androgeni. Il mancato legame con questa proteina, se assente o poco funzionante, è responsabile, come verrà chiarito in seguito, delle femminilizzazioni testicolari, complete e incomplete.

L'ipoplasia delle cellule di Leydig si accompagna ad assenza delle cellule germinali e prevalenza delle cellule di Sertoli; il testosterone in questi casi è quasi assente. Il fenotipo è femminile con segni variabili di virilizzazione e le gonadi risultano disgenetiche.

L'ormone antimulleriano AMH viene secreto dalle cellule di Sertoli ed è prodotto da un gene (MIF, *Mullerian Inhibiting Factor*) che mappa sul cromosoma 19. Ha la funzione di far regredire nel maschio gli abbozzi embrionali delle strutture che derivano dai dotti di Muller (tube di Falloppio, utero e vagina superiore). La mancata funzione di MIF dà una sindrome genetica a eredità autosomica recessiva, caratterizzata da pseudoermafroditismo interno e criptorchidismo.

Le gonadotropine LH e FSH hanno un comportamento variabile durante la gravidanza, raggiungendo il massimo picco tra il quarto e quinto mese di gestazione per divenire quasi non dosabili alla fine della gravidanza. La produzione ipofisaria di LH e FSH è stimolata dall'ormone GnRH (*Gonadotropin-Releasing Hormone*). Nel feto però l'attività ormonale del testicolo non è tanto regolata da LH e FSH, quanto dalla gonadotropina corionica (HCG, *Human Choronic Gonadotropin*) di provenienza materna. I livelli di HCG risultano elevati alla nascita. Il gene AMELY (*AMELogenin Y*) mappa su Yp e la ricerca della sua presenza viene utilizzata per rilevare delezioni interstiziali del braccio corto del cromosoma Y [2].

■ 2.1 Caratteri normali e patologici del liquido spermatico

Nel feto, a partire dal sesto mese, sono presenti nella parete dei tubuli seminiferi primitivi cellule germinali primordiali e cellule epiteliali; dalle prime avranno origine gli spermatogoni, dalle seconde le cellule di Sertoli. Le cellule di Leydig si trovano tra gli interstizi dei tubuli e iniziano la sintesi del testosterone già dopo il secondo mese di gestazione.

Le parti che compongono lo spermatozoo, riconoscibili alla microscopia elettronica, sono:

- la testa, formata dal nucleo e dall'acrosoma;
- il collo, che è la zona di attacco della testa al flagello;
- il flagello, che consente la mobilità dello spermatozoo ed è formato da tre segmenti: intermedio, principale e terminale.

Nello spermocitogramma sono riportate in percentuale le principali proprietà dei nemaspermi. Va tenuto presente che la deviazione standard (DS) dei valori che si riscontrano in campioni di maschi fertili è abbastanza ampia (ad esempio, oscillazioni da 48% a 98% sono compatibili per le forme dei nemaspermi ritenute normali) (Figg. 1-13).

Il numero minimo normale di spermatozoi si ritiene che sia circa 20 milioni/ml. Le cellule tonde (leucociti, epitelii uretrali, ecc.) non devono superare 5 milioni/ml; in particolare i leucociti devono trovarsi al di sotto di 1 milione/ml. Un loro aumento è segno di processi infettivi, ma anche di subfertilità non associata necessariamente a infezioni.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità già da tempo (2000) ha dettato linee-guida che indicano i valori normali e patologici di un eiaculato. Ricordiamo che l'eiaculato, o liquido seminale, è formato da due componenti: gli spermatozoi, prodotti dai testicoli, e il plasma seminale, secreto dalle ghiandole accessorie (prostata, vescicole seminali, ghiandole bulbouretrali).

Forme considerate normali: >80% (Fig. 1)



Fig. 1 Spermatozoo normale, testa ovalare, tratto intermedio (collo) e flagello, o coda, disteso. Osservazione in contrasto di fase a 40x. Testa ovale: 4 x 2,5 μm ; tratto principale: 8 μm ; flagello disteso, 45 o più μm . L'acrosoma deve comprendere almeno la metà della testa

Forme irregolari: >5-6% (Figg. 2, 3)



Fig. 2 Spermatozoo con tratto intermedio ad angolo retto e tratto terminale del flagello, o coda, attorcigliato. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 3 Spermatozoo con due teste allungate, tratto intermedio normale e flagello, o coda, allungato. Osservazione in contrasto di fase a 40x. Testa senza una ben precisa morfologia. Le dismorfologie della testa comprendono la duplicazione, la macrosomia, la microsomia, la conformazione a pera

Flagello anomalo (avvolto, angolato): 5% (Figg. 4-7)



Fig. 4 Spermatozoo con testa grande e anomala, con 5 flagelli, o code. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 5 Spermatozoo macrosomico con testa e tratto intermedio di dimensioni maggiori, con flagello, o coda, attorcigliata nel tratto intermedio. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 6 Spermatozoo con testa allungata, tratto intermedio a “U” e flagello, o coda, ispessito. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 7 Spermatozoo con vacuolo citoplasmatico nel tratto intermedio, flagello, o coda, inspessito. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Forme immature (presenza di vacuoli citoplasmatici di dimensioni quasi pari alla testa): >2% (Fig. 8)



Fig. 8 Spermatozoo con vacuolo citoplasmatico nel tratto intermedio, da non confondersi con testa bilobata (si intravede il tratto intermedio normale). Osservazione in contrasto di fase a 40x

Testa piriforme: 2% (Fig. 9)



Fig. 9 Spermatozoo con testa piriforme, tratto intermedio integro e flagello, o coda, ad angolo acuto. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Spermatozoi doppi: <2% (Fig. 10)



Fig. 10 Spermatozoi con 2 teste, una macrosomica e l'altra normale. Unico tratto iniziale e intermedio e 2 code. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Spermatozoi allungati, microcefali, macrocefali: 1% (Figg. 11-13)

Fig. 11 Spermatozoo con tratto intermedio normale e allungato nella testa e nel flagello, o coda. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 12 Spermatozoo microcefalo con tratto intermedio e flagello, o coda, non distinguibile. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 13 Spermatozoo macrocefalo con tratto intermedio normale e 2 code. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Va ricordato inoltre che, per ottenere esami attendibili, il campione, raccolto dopo astinenza di almeno 2 giorni, ma non superiore a una settimana, deve essere consegnato al laboratorio in tempi brevi (entro mezz'ora dal prelievo). Se il prelievo non viene effettuato nella stessa sede degli esami, va posta attenzione a evitare di esporlo durante il trasporto a variazioni termiche (specie alle basse temperature).

Sono ritenuti normali i seguenti parametri:

- *Volume del liquido spermatico*: da 2 ml a 5 ml.
- *Concentrazione degli spermatozoi*: uguale o superiore a 20 milioni/ml; questo valore lascia quindi prevedere in un intero eiaculato la presenza di più di 40 milioni di spermatozoi.
- *Motilità progressiva*: la percentuale di spermatozoi validamente progressivi, calcolata entro 60 minuti dall'eiaculazione, deve essere superiore a 25%. Sono stati anche ideati criteri di valutazione della motilità, in base al comportamento a 60 minuti di osservazione: tipo A: motilità progressiva rapida; tipo B: motilità progressiva lenta; tipo C: motilità non progressiva; tipo D: assenza di motilità.
- *Vitalità*: la percentuale di spermatozoi vitali deve essere superiore a 75%.
- *Morfologia*: le forme definite normali devono essere superiori a 15%. Un test che consente di differenziare gli spermatozoi mobili da quelli immobili (necrospermi) è l'*Hypo-Osmotic Swelling Test* (HOST). Si basa sul principio che solo gli spermatozoi mobili rispondono a un gradiente osmotico, gonfiandosi in soluzione ipotonica. Il fenomeno va osservato al microscopio a contrasto di fase. Il test si rivela utile quando è necessario fare la selezione degli spermatozoi vivi (ad esempio, nella ICSI).

- *pH*: deve essere compreso tra 7,2 e 8.
- *Fruttosio*: nel liquido seminale questo zucchero ha una concentrazione media di circa 1,5 mg/ml. Nell'azoospermia escretoria è quasi assente.

Altri test di valutazione sono:

- *Anticorpi antispermatozoi (ASA)*: diverse metodiche sono in grado di scoprire la presenza di ASA, costituiti da una delle famiglie delle immunoglobuline (IgG, IgA, IgM). Si ricercano, oltre che nel liquido seminale, anche nel sangue di entrambi i coniugi e nelle secrezioni vaginali e cervicali. Un test diagnostico è quello dell'agglutinazione (reciproca adesione di nemaspermi mobili) che non deve normalmente superare 5%. Valori più alti sono indicativi di una patologia autoimmunitaria. I fattori che possono indurre la produzione di ASA sono molti: le ostruzioni meccaniche, il varicocele, le infezioni (batteriche, virali e fungine), le torsioni del funicolo, ecc. Non è noto il meccanismo patogenetico con cui gli anticorpi antispermatozoi inducono la subfertilità. Oltre al test di agglutinazione, si può valutare la presenza di anticorpi utilizzando anche altre metodiche, come l'*immuno-bead test (IBD)* e la metodica delle particelle aderenti a nemaspermi vitali (*Mixed Antiglobulin Reaction, MAR*). Normalmente non più del 10% degli spermatozoi mobili aderisce agli eritrociti agglutinati; percentuali superiori sono indicative di probabile infertilità immunologica.
- *Post-Coital Test (PCT)*: serve a valutare la capacità di sopravvivenza degli spermatozoi nel muco cervicale. Un risultato negativo (numero di spermatozoi inferiore a 20 per campo ottico) richiede indagini estese anche alla donna (cicli anovulatori, disfunzioni ormonali, infezioni, ecc.).
- *Integrità del DNA*, con tecniche fluorocitometriche, come la *SCSA (Sperm Chromation Structure Assay)* [3].

I *CASA (Computer Assisted Semen Analysis)* sono invece sistemi di analisi computerizzata del liquido seminale.

■ 2.2. Anomalie strutturali e funzionali degli spermatozoi

Le anomalie della struttura e i difetti funzionali degli spermatozoi possono coinvolgere l'intera cellula o singole sue parti (la testa o la coda). Per il loro riconoscimento si utilizzano strumenti e procedure tecniche particolari, quali la microscopia elettronica e le analisi molecolari (*Fluorescence In Situ Hybridization, FISH*), tecniche di immunofluorescenza, e altre. Si ottiene in questo modo una accurata valutazione funzionale degli spermi che sfuggirebbe altrimenti con l'impiego della semplice microscopia ottica. Ad esempio, l'immunofluorescenza consente di riconoscere i componenti della coda; specifici anticorpi monoclonali fanno evidenziare due importanti proteine, la tubulina (componente dell'assonema) e la proteina AKAP4 (Fig. 14), componente fondamentale del rivestimento fibroso; le analisi molecolari consentono di riconoscere le frammentazioni della catena del DNA, presenti in alcuni difetti acrosomici (Fig. 15).

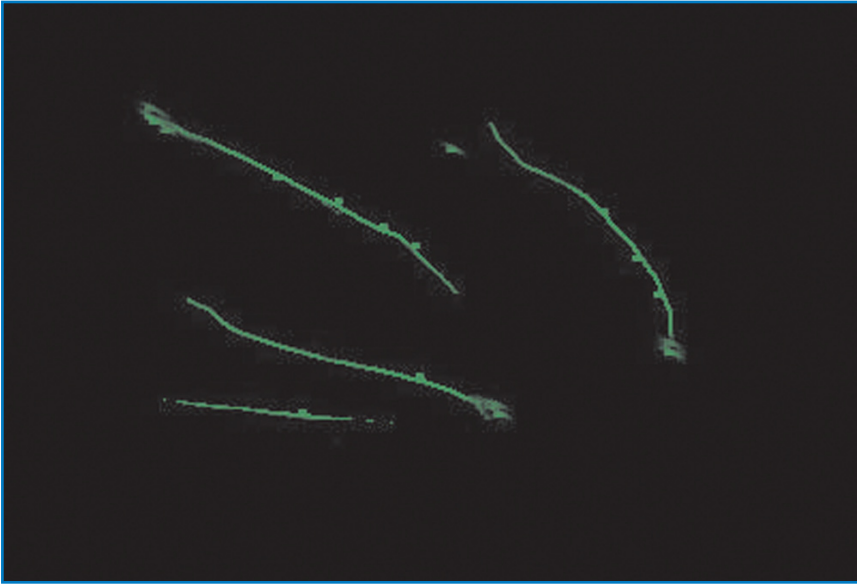


Fig. 14 Proteina AKAP4 (puntini verdi legati lungo il decorso della coda), tra i componenti più importanti del rivestimento fibroso della coda dello spermatozoo. Osservazione all'immunofluorescenza

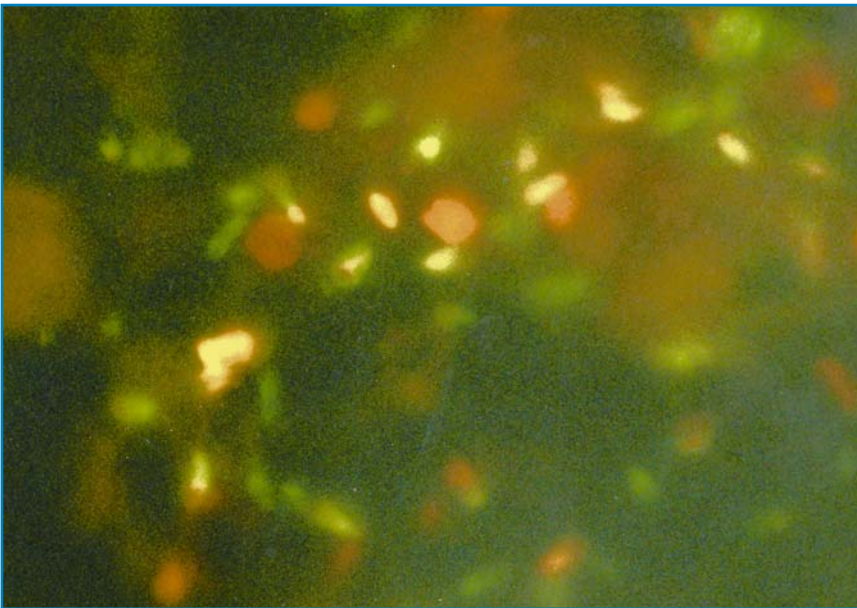


Fig. 15 Acrosoma (arancio chiaro), corpo centrale della testa con catena del DNA integra (verde), testa con catena del DNA severamente danneggiata (rosso), testa con catena del DNA lievemente danneggiata (giallo). Osservazione all'immunofluorescenza

■ 2.3 DNA danneggiato e frammentato

Nella infertilità si trovano spermatozoi con DNA danneggiato in percentuali maggiori dell'atteso (Fig. 16).

Rimangono ancora sconosciuti i fattori che inducono questi danni molecolari e si ignora il rapporto causale fra queste alterazioni molecolari e l'infertilità. La ICSI bypassa la barriera naturale selettiva, per cui c'è il rischio di introdurre spermatozoi contenenti DNA danneggiato, con conseguenze non prevedibili [4]. Si ritiene che test idonei a scoprire un DNA danneggiato potrebbero avere una forte importanza prognostica e consentire così parametri di valutazione nelle coppie infertili.

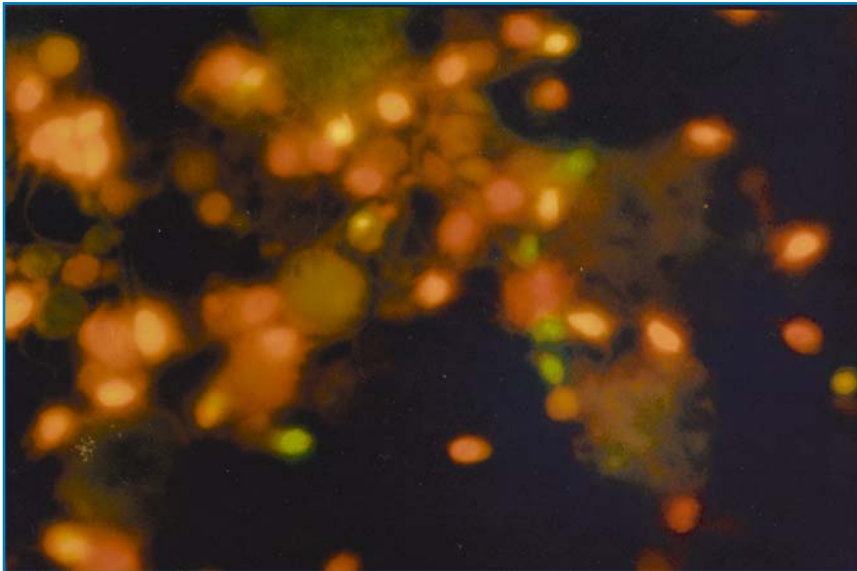


Fig. 16 Integrità del DNA dello spermatozoo. In rosso DNA danneggiato, in verde DNA integro. Osservazione alla immunofluorescenza

■ 2.4 Terminologia

Per “aspermia” si intende l'assenza di eiaculato, spesso dovuta a eiaculazione retrograda; in queste condizioni si ritrovano nelle urine i nemaspermi. L'aspermia può essere conseguenza del trattamento chirurgico del carcinoma del testicolo o della legatura dei vasi deferenti. Un eiaculato inferiore a 1 ml deve fare sospettare una eiaculazione retrograda.

Alcune rare anomalie congenite dell'apparato uro-genitale, come l'estrofia vescicale e l'epispadia, possono essere la causa di eiaculazione retrograda. Il difetto è anche una complicanza frequente della prostatectomia.

L'“azoospermia” è l'assenza totale degli spermatozoi. Si può trovare sia negli ipogonadismi ipogonadotropi che ipergonadotropi. In base all'eziologia, le azoospermie si classificano in “non ostruttive” (secretorie) e “ostruttive” (escretorie). Queste ultime sono meno frequenti e più curabili delle prime. Le forme secretorie non ostruttive hanno cause molto eterogenee, in gran parte ancora poco conosciute. Possono indurre difetti nelle varie tappe del processo meiotico, dalla completa assenza di meiosi, all'arresto nella profase dello stadio di zigotene, al mancato o non corretto appaiamento nelle ricombinazioni sinaptiche nella fase di pachitene. Questi difetti sono spesso cromosomici, ma alla loro origine vi sono sempre cause genetiche, disfunzioni cioè dei geni preposti al controllo della divisione meiotica. Le azoospermie ostruttive (escretorie) inducono infertilità con un meccanismo adiabatico: gli spermatozoi cioè non sono assenti, ma restano bloccati nella sede di produzione.

Con il termine “oligospermia” si indicano situazioni in cui la concentrazione degli spermatozoi è inferiore a 20 milioni/ml. Un'oligozoospermia viene considerata di grado severo quando il numero di nemaspermi è inferiore a 3 milioni/ml. Sono molto spesso difetti non ostruttivi secretori. Una concentrazione di spermatozoi inferiore a 1 milione/ml si definisce “criptospermia” (oligospermia secretoria con un volume normale di eiaculato).

L'“astenozoospermia” è la condizione per cui gli spermatozoi validamente progressivi sono inferiori al 25% (entro 60 minuti dall'eiaculazione). Il difetto è frequente, può avere origini varie e caratterizza tra l'altro le malattie genetiche da discinesia primaria delle ciglia. L'astenozoospermia di grado severo è uno dei segni clinici delle sindromi da ciglia immobili; l'esempio più dimostrativo è dato dalla sindrome di Kartagener (Figg. 17, 18).

La microscopia elettronica consente il riconoscimento di particolari anomalie strutturali della coda. La sindrome 9+0, caratterizzata dall'assenza della coppia centrale di microtubuli, è un altro esempio di astenozoospermia su base genetica (Figg. 19, 20).

La scarsa mobilità è spesso associata ad altri difetti, in particolare alla oligozoospermia, dando origine a patologie miste di astenooligozoospermia.

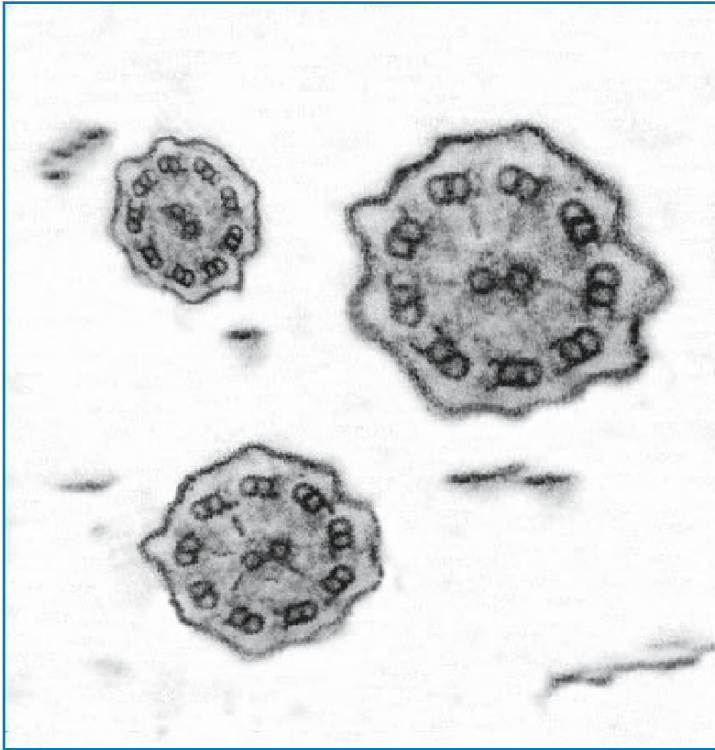


Fig. 17 Sezione di coda di uno spermatozoo normale. Normale presenza dei bracci di dineina. Tecnica TEM (Trasmission Electron Microscopy)

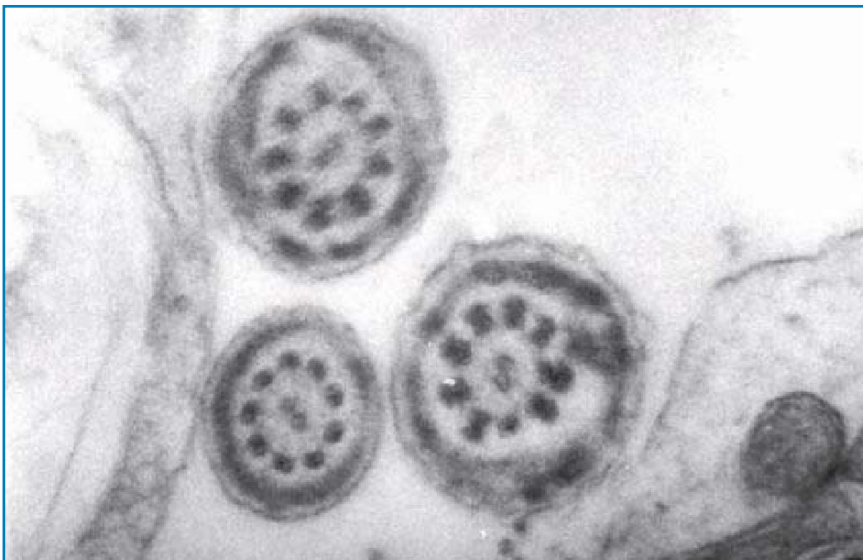


Fig. 18 Sindrome di Kartagener. Assenza dei bracci di dineina. Tecnica TEM

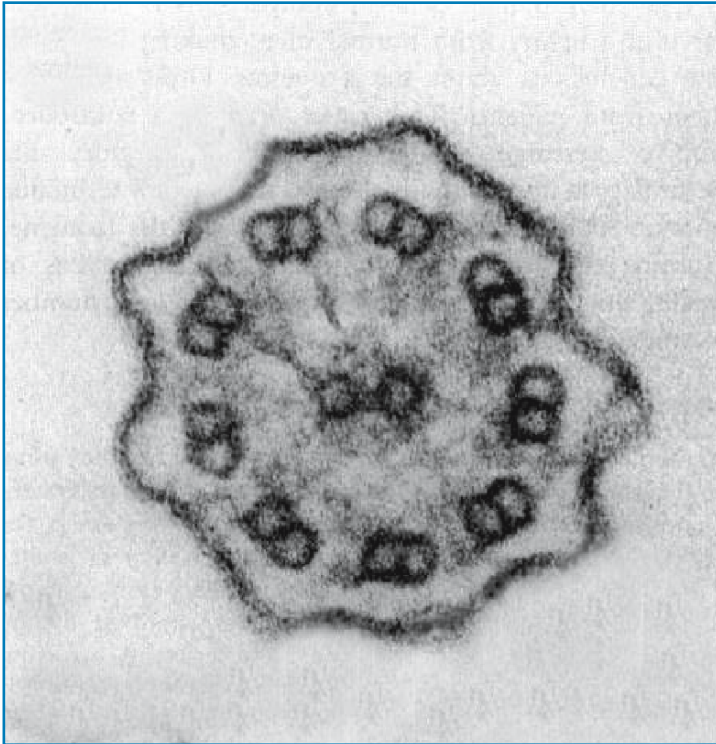


Fig. 19 Spermatozoo con coda normale. Nove coppie di microtubuli e una coppia centrale. Tecnica TEM



Fig. 20 Assenza della coppia centrale di microtubuli (sindrome 9+0). Tecnica TEM

“Teratozoospermia” è il termine utilizzato quanto si riscontra dismorfologia in più del 70% dei nemaspermi. Gli spermatozoi con questa grave anomalia sono acefalici. Il difetto risiede nella regione testa-collo per la mancata migrazione della coda al polo caudale. La fragilità nella giunzione testa-collo, per difettosa funzione del centrosoma, spiega il non raro fallimento di ICSI nei portatori di questo difetto. I casi di pura teratozoospermia sono rari e si ritiene che possano avere trasmissione genetica autosomica recessiva, anche se non sono stati ancora riconosciuti difetti molecolari [5].

La “ridotta progressione” viene valutata secondo una scala di valori pre-stabiliti. La progressione si considera ridotta quando è inferiore a 2 unità della scala MacLeod.

La “necrozoospermia” indica la morte dello spermatozoo. Nell'eiaculato si ritrova sempre una piccola percentuale di spermatozoi morti, dovuta alla necrosi cellulare. Percentuali più elevate si osservano sia nelle infezioni urogenitali di maschi fertili, che in maschi infertili senza alcuna patologia infettiva o infiammatoria. Si ritiene che la necrozoospermia sia il risultato di un processo di apoptosi e che avvenga durante il passaggio degli spermatozoi attraverso gli epididimi (necrozoospermia epididimale). La necrosi comporta sempre irreversibili danni alla struttura dello spermatozoo, particolarmente al rivestimento fibroso della coda (tubulina) con conseguente ridotta mobilità, come dimostrano gli studi di microscopia elettronica e di immunofluorescenza. Rimane tuttora oscura la patologia che causa questi disordini. Per valutare la vitalità degli spermatozoi si usa una particolare colorazione sopravvitala con eosina.

Con “globozoospermia” ci si riferisce a una rara anomalia degli spermatozoi, che appaiano con la testa rotonda (Figg. 21, 22).

Può essere totale, presente cioè in tutte le cellule, o parziale. Il grado di infertilità è in rapporto alla percentuale di spermatozoi affetti. Una globozoospermia totale comporta sempre un grado di infertilità molto grave con ridotta capacità di attivare *in vitro* gli ovociti. Dal punto di vista strutturale la cellula globozoospermica dimostra gravi difetti acrosomici, sia nella struttura della cromatina che a livello molecolare (DNA frammentato). La patogenesi potrebbe ricondursi a difetti dei geni che durante la spermiogenesi intervengono nella formazione dell'acrosoma, per cui risulta un'alterata espressione delle proteine del nucleo e/o un'alterazione funzionale dell'apparato di Golgi [5, 6]. Le anomalie citogenetiche (aneuploidie) non sono rare. Oltre all'aumentato rischio di concepimenti aneuploidi, la globozoospermia è responsabile di insuccesso di fertilizzazione *in vitro*, per la incapacità di questi spermatozoi, come detto, di attivare gli ovociti [7].

Malgrado questi riconosciuti rischi, non sembra sia stato osservato un significativo aumento di cromosomopatie (aborti o plurimalformati) tra i pochi concepiti ottenuti con la ICSI. È stata segnalata in qualche caso la ricorrenza familiare di questa patologia.

Molti dei difetti sopra ricordati sono associati, per cui derivano quadri complessi come la “oligoastenozoospermia” (ridotto numero di spermatozoi associato a scarsa motilità) e la “oligoastenoteratozoospermia” (ridotto numero di spermatozoi associato a scarsa mobilità e a dismorfologia).

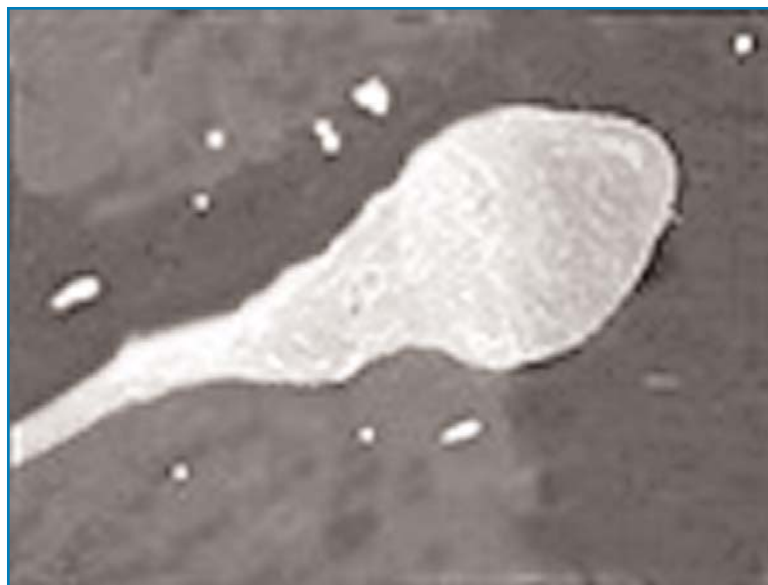


Fig. 21 Spermatozoo con normale presenza dell'acrosoma. Tecnica SEM (*Scanning Electron Microscope*)

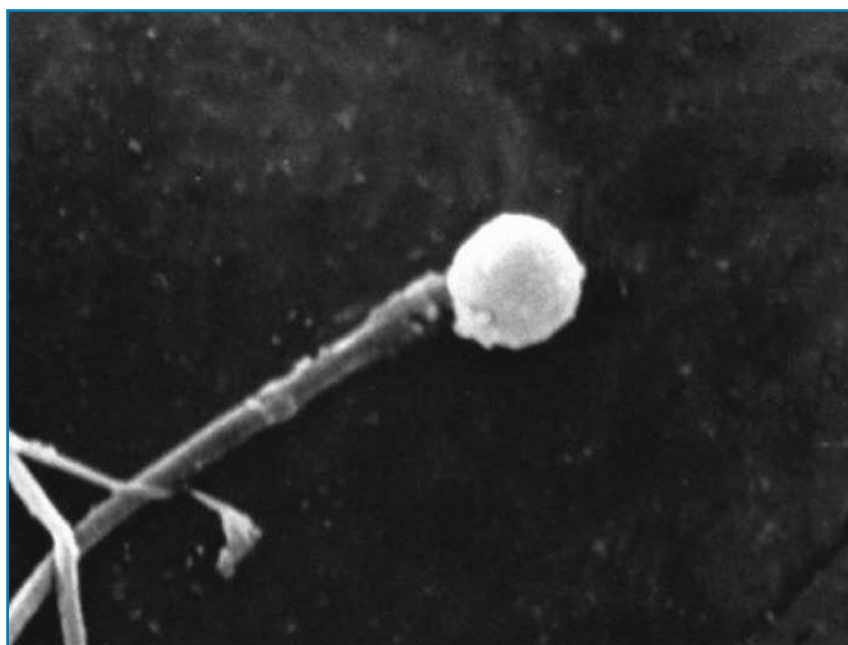


Fig. 22 Spermatozoo affetto da globozoospermia, con assenza completa dell'acrosoma. Tecnica SEM

Diversi “test funzionali spermatici” sono stati ideati allo scopo di fornire informazioni sul tipo di anomalie che causano infertilità o subfertilità: lo *swelling test*; i test all'eosina, all'anilina e all'arancio di acridina; il test di decondensazione cromatinica; il test di reazione acrosomiale; il *Post-Coital Test* (PCT).

■ 2.5 Crioconservazione degli spermatozoi

In molti casi è necessario ricorrere alla crioconservazione degli spermatozoi. Questo speciale congelamento consente di conservare le cellule per un periodo praticamente illimitato, mantenendone la capacità fecondante. Senza entrare nelle tecniche procedurali, va solo ricordato che la temperatura ha un ruolo decisivo per assicurare la sopravvivenza dei gameti. A questo riguardo l'azoto liquido (-196 °C) è preferibile ai frigoriferi a -80 °C. Fino al loro impiego, i campioni non devono subire processi di scongelamento e ricongelamento.

■ 2.6 Inseminazione artificiale

Si riferisce alle tecniche che comportano la deposizione dei gameti maschili nelle vie genitali femminili e, a seconda della procedura, si parla di inseminazione vaginale, cervicale, uterina; più di rado si ricorre a quella tubarica e follicolare.

Si ricorre a queste tecniche in diversi casi di infertilità di coppia. Le procedure richiedono, tra l'altro, la stimolazione ovarica e un'adeguata preparazione del liquido seminale in precedenza studiato a livello funzionale. Il successo di queste tecniche è legato a vari fattori, tra cui l'età della donna. È infatti dimostrato che le possibilità di gravidanza decrescono notevolmente dopo i 40 anni, anche se i risultati vanno considerati anche in rapporto all'età maschile.

■ 2.7 Tecnica ICSI

Questa tecnica (*Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*) viene preferita alla FIVET quando il numero assoluto degli spermatozoi normali per morfologia e mobilità è inferiore a 500 000.

Le cellule possono provenire dall'eiaculato, ma anche talvolta dall'epididimo e dal testicolo. La percentuale di successi, se considerati in base agli ovociti fertilizzati, è mediamente del 70% quando si utilizzano gameti dell'eiaculato; risultati inferiori si hanno con spermatozoi epididimari o testicolari. Il *transfer* embrionario è di solito molto elevato (90%).

Con la ICSI viene aggirata la selezione naturale degli spermatozoi, per cui è logico prevedere in qualche caso la nascita di soggetti che non sarebbero stati altrimenti concepiti. Complessivamente considerati, si tratta però di eventi piuttosto rari e spesso evitabili se viene preliminarmente eseguita una consulenza genetica. Sembra tuttavia accertato che nei concepiti con la ICSI vi è un aumento, se pur leggero, di aneuploidie dei cromosomi, specie di quelli sessuali.

Alcuni dati sul follow-up di bambini nati con la ICSI indicano valori del 2% di cromosomopatie e altrettanta percentuale di malformazioni congenite. Nella maggioranza dei casi le cromosomopatie sono *de novo*, avendo i genitori un cariotipo normale; non si è però finora risaliti alle cause di questa complicazione.

Va aggiunto che, anche se i trattamenti ormonali eseguiti per correggere un'infertilità, come risaputo, possono indurre nel feto malformazioni degli organi genitali, non è improbabile che il constatato, se pur lieve, aumento di malformazioni congenite nei nati da fecondazione assistita sia dovuto alle cause stesse della infertilità. Non va, inoltre, trascurato il fatto che è stata trovata una correlazione tra la frequenza di aneuploidie degli spermatozoi e l'età dei maschi trattati.

3 Cause cromosomiche dell'infertilità di coppia

Le malattie cromosomiche, incluse quelle dei cromosomi sessuali, si osservano in non meno dell'1% dei nati vivi.

Le cromosomopatie sono tra le cause più frequenti di sterilità di coppia e di molte sindromi plurimalformative embrio-fetali; sono anche la causa più frequente degli aborti precoci (45% di quelli che avvengono nel primo trimestre di gestazione) e del 10% delle morti endouterine.

L'eziopatogenesi delle cromosomopatie non è ancora chiara, ma vi è motivo di ritenere che alla base vi siano complessi e non univoci disordini genetici, dovuti a mutazioni dei geni preposti al controllo della divisione cellulare. Vengono così in qualche modo ridimensionati alcuni fattori o cofattori che, non a ragione, vengono ritenuti da molti la causa principale (se non addirittura l'unica) delle anomalie cromosomiche fetali, quale, ad esempio, l'età materna.

Negli embrioni ottenuti dopo fecondazione assistita (FIVET, *Fertilization In Vitro and Embryo Transfer*; ICSI) sono state trovate anomalie cromosomiche (mosaicismi, poliploidie, aneuploidie) in numero più elevato dell'atteso, come pure su embrioni preimpiantati, ottenuti da coppie con cariotipo normale. È stato dimostrato che i soggetti oligozoospermici con cariotipo normale 46,XY hanno spermatozoi con difetti citogenetici (aneuploidie) in numero superiore all'atteso. Anomalie nella fase di appaiamento sinaptico, che normalmente si presentano con una frequenza inferiore al 10%, sono state trovate in misura quasi doppia nei casi di severa oligozoospermia [8].

Le anomalie cromosomiche sono più frequenti dell'atteso nel cariotipo dei maschi infertili. Spesso sfuggono al riconoscimento perché sono rappresentate da livelli di mosaicismo molto basso. Nel caso dei cromosomi sessuali è stata dimostrata un'incidenza di mosaicismi pari al 4,5% nei maschi infertili, contro lo 0,7% dei controlli [9]. Questi studi si possono oggi effettuare con facilità usando sonde di DNA satellite, specifiche per le regioni centromeriche dei cromosomi X e Y.

Le aneuploidie gonosomiche, che spesso si osservano nei casi di severa oligozoospermia, non sempre trovano riscontro nei cromosomi delle cellule somatiche. Sono infatti anomalie sinaptiche, limitate cioè alle cellule germi-

nali senza rispondenza nel cariotipo del sangue periferico. L'importanza degli errori sinaptici è stata sottostimata in passato, anche perché poco ricercata, anche se le preparazioni meiotiche classiche ne consentono agevolmente il riconoscimento. Queste cromosomopatie non sembra abbiano significativi effetti sulla qualità degli embrioni ottenuti con le tecniche di fecondazione *in vitro*; possono però ridurre la percentuale dei successi di fertilizzazioni [7].

■ 3.1 Anomalie dei cromosomi sessuali maschili

■ 3.1.1 Sindrome di Klinefelter

È la più conosciuta e frequente aneuploidia dei cromosomi sessuali. Il cariotipo è aneuploide 47,XXY. La sua frequenza è superiore a 1 su 700 maschi nati e rappresenta il 10% delle cause d'infertilità maschile. La povertà di segni clinici prima della pubertà spiega perché la sindrome viene spesso riconosciuta tardivamente, talvolta solo dopo un matrimonio.

Costante (o quasi) è la sterilità associata al ridotto sviluppo dei caratteri sessuali secondari, quali la mancata crescita della barba e l'impianto della peluria pubica di tipo femminile; la ginecomastia è non costante. La statura è generalmente superiore al 75° centile; il ritardo mentale non fa parte della sindrome, essendo il quoziente intellettivo generalmente compreso tra 85 e 90; si può però notare con discreta frequenza una difficoltà nell'apprendimento e nell'espressione verbale, moderati tremori intenzionali, ansietà e difficoltà nell'inserimento nella vita sociale. I testicoli tendono a rimanere più piccoli della norma anche dopo la pubertà¹. La ginecomastia può portare con frequenza significativa al tumore della mammella, per cui la mastectomia trova indicazione non per soli motivi estetici. Vi è la predisposizione alle varici degli arti e alla osteoporosi giovanile; quest'ultima può giovare della terapia testosterone. I valori ematici del testosterone tendono a essere bassi, mentre sono elevate le gonadotropine LH e FSH.

Di recente sono stati segnalati casi di Klinefelter con cariotipo aneuploide 47,XXY in tutte le metafasi linfocitarie, che presentavano alla biopsia testicolare, anche se in numero limitato, cellule euploidi (46,XY) e gameti

¹ L'aumento del volume testicolare è uno dei segnali di inizio della pubertà, e prosegue fin quando non è completata. Contemporaneamente alle modifiche macroscopiche, ha inizio la spermatogenesi. Il volume testicolare, espresso in millilitri, può essere misurato con l'orchimetro di Prader, formato da una serie scalare di grani oviformi. In un adulto normale il volume è tra 15 e 20 ml. L'orchimetro ha un grano massimo di 25 ml, che si osserva spesso negli adulti affetti dal ritardo mentale *X-linked* (malattia di Martin Bell).

normali aploidi 23,X o 23,Y. Ciò ha reso possibile l'approccio alla fecondazione *in vitro*. I primi risultati si sono dimostrati incoraggianti per gli esiti positivi ottenuti.

Si è quindi proseguito nell'impiego per i trattamenti di fecondazione *in vitro* (ICSI) ed è stato confermato, fatto inatteso, che l'assetto cromosomico degli spermatozoi in questi casi corrisponde a quello di normali gameti (23,X e 23,Y), con assenza cioè di gameti con 24 cromosomi, come previsto dalla meiosi di una cellula iperdiploide di 47 cromosomi. Le segnalazioni al riguardo sono ormai centinaia, che riguardano bambini nati senza disordini cromosomici [10-15].

Da uno studio condotto in Cina, su più di 30 nati con ICSI da soggetti affetti da sindrome di Klinefelter non a mosaico, solo un concepito è stato trovato con cariotipo 47,XXY [16]. Il successo dei risultati sembra influenzato anche dall'età dei pazienti: da un'indagine statisticamente significativa è emerso che i risultati migliori si ottengono da portatori della sindrome con età inferiore a 35 anni [17].

La ragione per cui la maggioranza dei nati ha un cariotipo normale non è stato ancora del tutto chiarita. Si ritiene che i gameti originino da cloni cellulari normali (46,XY), espressioni di un mosaicismo germinale. È stato anche ipotizzato che l'intervento di meccanismi genici di controllo sulla spermatogenesi consentirebbero alle cellule aneuploidi frequenze di ricombinazioni simili a quelle delle cellule normali euploidi [18].

È importante tenere presente che se si vuole iniziare una terapia testosterone, il prelievo bioptico per la crioconservazione deve essere eseguito prima del trattamento. Il testosterone infatti, paradossalmente, indurrebbe irrimediabile sclerosi dei tubuli seminiferi, rendendo inutilizzabile il materiale prelevato per una ICSI [19].

Alla luce di queste interessanti e nuove conoscenze, che aprono prospettive terapeutiche fino a ieri insperate, si possono trarre le seguenti considerazioni: i pazienti con la sindrome di Klinefelter possono risultare fertili contrariamente a quanto si riteneva fino a qualche anno addietro; per ricercare un mosaicismo, che migliora la prognosi, è necessario osservare il numero dei cromosomi sessuali su non meno di 100 nuclei in interfase da cellule prelevate dal sangue periferico (con la tecnica FISH e utilizzando sonde specifiche per i cromosomi X e Y). È un modo rapido di indagine, che sostituisce in questo caso l'esame citogenetico sulle metafasi ottenute con la coltivazione delle cellule. Le ormai numerose segnalazioni relative all'assetto normale cromosomico dei gameti consente di tranquillizzare anche sul rischio di concepimenti aneuploidi; nei pazienti che hanno in precedenza eseguito terapia con testosterone, la probabilità di trovare gameti maturi e vitali è molto ridotta.

■ 3.1.2 Maschio XX

Una particolare cromosomopatia che causa sterilità è la sindrome del maschio XX. Il fenotipo di questi pazienti è maschile e la sterilità è dovuta al fatto che il genitore ha trasmesso all'affetto il cromosoma sessuale X su cui è traslocata una parte del cromosoma Y contenente la regione SRY (*Sex-determining Region Y*). Solo in alcune eccezioni la traslocazione del frammento Y non si trova sul cromosoma X, ma su un autosoma [20]. La sindrome del maschio XX induce *sex reversal*, motivo di discordanza in occasione della diagnosi prenatale (fenotipo maschile al riscontro ecografico e genotipo femminile 46,XX all'esame di laboratorio). È stato in qualche caso dimostrato che nel maschio XX l'inattivazione di uno dei due cromosomi X non è random, in quanto resta attivo in modo preferenziale il cromosoma con la traslocazione, fatto che spiega la completa mascolinizzazione di questi pazienti [21].

■ 3.1.3 Maschio XYY

I maschi con cariotipo 47,XYY hanno, nella maggioranza dei casi, un fenotipo del tutto normale, con *performance* ai limiti della normalità. La definizione di "cromosoma della criminalità" data un tempo al cromosoma Y soprannumerario, è oggi solo uno spiacevole ricordo del passato.

La *facies* tende a essere allungata, con gabbella prominente. Con significativa frequenza vi sono lievi anomalie dello scheletro e insorge in giovinezza acne nodulo-cistica. È presente talvolta ipogenitalismo e ipospadia, ma la fertilità è compromessa in maniera non costante. Va ricordato che i gameti di questi pazienti hanno quasi sempre un assetto cromosomico normale; i concepiti hanno, quindi, un corredo cromosomico euploide (come accade nelle donne con il triplo X e nei casi fertili di sindrome di Klinefelter). Le ragioni possono essere analoghe a quelle precedentemente esposte per i maschi 47,XXY.

■ 3.1.4 Anomalie strutturali del cromosoma Y

Cromosoma Y dicentrico

È la più frequente anomalia strutturale del cromosoma Y, che avviene quando la divisione dei cromatidi è trasversale e non longitudinale. Un isocromosoma è quasi sempre dicentrico e può avere origine dalla duplicazione dei bracci corti e assenza dei bracci lunghi, o viceversa. La prima condizione è rara ed è compatibile con un normale fenotipo maschile, poiché i geni preposti alla differenziazione sessuale sono conservati, trovandosi nella regione pseudoautosomale dei bracci corti. Questo dato è importante nel caso di una valutazione prognostica prenatale. È però prevedibile infertilità, dato che i geni della spermatogenesi sono posizionati sui bracci lunghi del cromosoma.

È stato riferito il caso di un giovane azoospermico con isocromosoma Yp, con fenotipo normale maschile e soltanto cellule di Sertoli [22]. La maggioranza degli isodicentrici (Yp) sono mosaicismi 45,X/46,X,idic(Yp); in questi casi la prognosi è sfavorevole, dovendo essere prevista eterogeneità fenotipica, a seconda della percentuale della linea ipodiploide 45,X e anche dei geni coinvolti nel riarrangiamento cromosomico. Si possono perciò avere fenotipi maschili, femminili Turner-simili (*Turner-like*), pseudoermafroditismi maschili [23-25]. Un isocromosoma dei bracci lunghi dà un fenotipo femminile Turner-simile (*Turner-like*).

Cromosoma Y ad anello

In questa aberrazione manca una parte delle regioni terminali di entrambi i bracci e il fenotipo varia a seconda dell'estensione delle zone delete [26]. Il cromosoma ad anello è spesso instabile, per cui non è raro che il cariotipo sia un mosaicismo 45,X/46,X,r(Y). Il fenotipo in questi casi varia in base alla percentuale delle due linee cellulari, dato che può essere da normale maschile, se prevale la linea con il cromosoma Y, fino ad avere ambiguità dei genitali (pseudoermafroditismo maschile), se la prevalenza è del clone ipodiploide 45,X [27].

Traslocazioni Y/autosoma

Sono riarrangiamenti non frequenti che quasi sempre comportano infertilità per l'inattività funzionale del cromosoma traslocato.

■ 3.1.5 Disordini numerici più rari

Sono molto meno frequenti della sindrome di Klinefelter e la sterilità si associa a ritardo mentale e altri difetti congeniti. Le sindromi 48,XXYY e 48,XXXY sono rare (meno di 1 su 20 000 nati).

Ancora più rara l'aneuploidia 49,XXXXY (meno di 1 su 80 000 nati).

■ 3.1.6 Polimorfismi del cromosoma Y

Il cromosoma Y può presentare all'osservazione microscopica variazioni nella grandezza. Queste sono espressione di un polimorfismo dei bracci lunghi, per cui il cromosoma Y si può presentare di diversa taglia, da molto piccoli (*very small*), a molto grandi (*very large*). La varietà *large* è più frequente della *small*. Mentre la parte distale dei bracci corti (Yp) rappresenta una regione pseudoautosomica, per l'omologia che ha con Xp terminale, il tratto distale dei bracci lunghi (Yq) è costituito da eterocromatina geneticamente inattiva. Al pari dei polimorfismi eterocromatinici dei cromosomi 1, 9, 16, le variazioni di grandezza si ritengono prive di significato patologico e vengono trasmesse a tutti i concepiti maschi. Possono però anche rappresentare mutazioni *de novo*.

■ 3.2 Anomalie dei cromosomi sessuali femminili

■ 3.2.1 Sindrome di Turner

La sindrome di Turner (45,X) ha una frequenza di 1/3000 nate femmine. Nella maggioranza dei casi, la sindrome origina da un errore meiotico con conseguente ipodiploida. La frequenza dei concepiti 45,X è di gran lunga superiore a quanto le nascite lascerebbero supporre. Infatti più del 90% dei concepiti con cariotipo 45,X abortiscono nel primo trimestre della gravidanza. Prevale anzi oggi l'opinione che tutti i casi che giungono alla nascita sono sempre mosaicismi misconosciuti, in quanto le forme omogenee 45,X sarebbero costantemente letali.

Le principali caratteristiche cliniche del fenotipo Turner sono: bassa statura (inferiore a 150 cm), sviluppo puberale ridotto o assente; amenorrea primaria; ridotto sviluppo mammario; capezzoli distanziati; disgenesia delle gonadi con ovari rudimentali (*streak gonads*); pterigio del collo, *facies* talvolta inespressiva con ptosi palpebrale; impianto basso dei capelli. Abbastanza caratteristica, ma non costante, è la brevità del IV e V metacarpo. Segni associati, piuttosto frequenti, sono: anomalie renali (agenesia unilaterale, reni a ferro di cavallo), anomalie cardiache (coartazione aortica), nevi pigmentati, dermofibromi. Il ritardo mentale non fa parte della sindrome. Alla nascita si può notare un transitorio linfedema dorsale alle mani e piedi. Questo segno deve di per sé essere motivo di sospetto diagnostico. La sindrome di Turner può comportare igroma cistico del collo e idrope.

La diagnosi prenatale può anche essere sospettata all'osservazione ecografica, ma può essere posta con certezza solo con l'esame citogenetico.

Le non rare anomalie strutturali del cromosoma X (isocromosomi, cromosomi ad anello, traslocazioni) possono dare quadri clinici definiti Turner-simili (*Turner-like*).

■ 3.2.2 Sindrome del triplo X (47,XXX)

Insorge con una frequenza di 1 su 1000 nate femmine. Non comporta particolari anomalie del fenotipo, al punto che attualmente si tende a non includerla tra le patologie genetiche. Va aggiunto che generalmente sono donne che tendono all'alta statura; possono comparire disordini mestruali, ma la fertilità non è in genere compromessa. Contrariamente a quanto lascerebbe prevedere la iperdiploidia, le donne con triplo X generano figli con la sindrome di Klinefelter o XXX in percentuale non superiore a quanto atteso nella popolazione dei nati.

■ 3.2.3 Sindrome del tetra X e del penta X

Queste due sindromi, rispettivamente 48,XXXX e 49,XXXXX, hanno molti segni clinici in comune: faccia dismorfica somigliante al Down, ritardo mentale non severo, difetti cardiaci congeniti, amenorrea con ridotta fertilità. La statura tende a essere normale o alta nel tetra X e bassa nel penta X.

■ 3.3 Anomalie dei cromosomi non sessuali

■ 3.3.1 Traslocazioni

Nei maschi le traslocazioni bilanciate si accompagnano a infertilità con significativa frequenza. Sono patologie non rare che meritano la dovuta attenzione nei Centri di fecondazione assistita, per le conseguenze che possono arrecare ai concepiti. Il rischio infatti di cromosomopatie, talvolta incompatibili con la sopravvivenza, può anche essere elevato. La consulenza genetica è necessaria. La valutazione del rischio in termini di conseguenze e di frequenza non è univoca, essendo diversa a seconda che il riarrangiamento è del tipo robertsoniano o non robertsoniano. Consideriamo perciò separatamente questi due modelli di traslocazioni.

Traslocazioni robertsoniane

Sono le traslocazioni che coinvolgono i cromosomi dei gruppi acrocentrici D (coppie 13-15) e G (coppie 21-22). Si possono avere modalità di riarrangiamenti diversi:

- tra cromosomi dello stesso gruppo: 13;14 - 13;15 - 14;15 - 21;22 ecc.;
- tra cromosomi di gruppi diversi: 13;21 - 14;21 ecc.;
- tra cromosomi omologhi della stessa coppia: 21;21 - 13;13 - 14;14 ecc.

Nelle traslocazioni 13;14 e 13;15 il rischio di aborti e di trisomia 13 si considera basso (1-2%), indipendente dal sesso del portatore. Queste traslocazioni nel maschio comportano spesso oligozoospermia.

Nella traslocazione 14;21 il rischio della sindrome di Down è del 10% se la traslocazione è materna, del 2,5% se paterna. Nei riarrangiamenti tra omologhi si possono avere solo aborti o plurimalformati (sindrome di Patau nella traslocazione 13;13, sindrome di Down nella traslocazione 21;21) (Fig. 23).

Traslocazioni reciproche non robertsoniane

Le traslocazioni tra cromosomi non acrocentrici sono frequenti e comportano per i concepiti un rischio più elevato delle robertsoniane. Considerate le varie possibili modalità di segregazione, vi è il rischio di parziali monosomie e/o di parziali trisomie (Fig. 24). Numerose statistiche concordano nel ritenere che prevalgono le modalità vantaggiose di segregazione (le alterne).

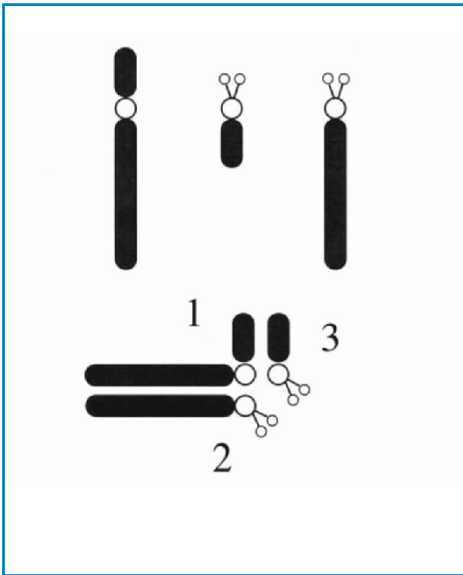


Fig. 23 Figura schematica di una traslocazione robertsoniana (*a sinistra*) tra un cromosoma del gruppo D e uno del gruppo G. In basso: un modello trivalente di riarrangiamento meiotico. Da [28], con autorizzazione

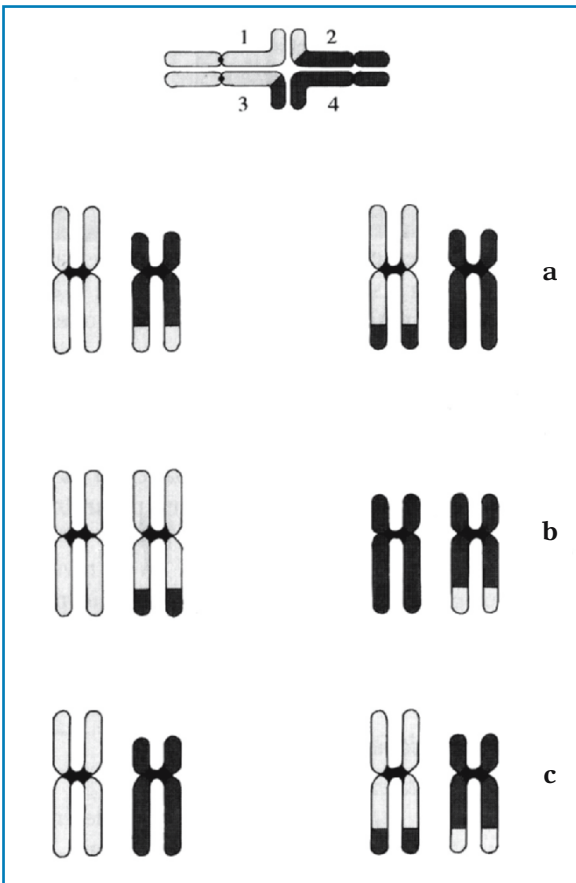


Fig. 24a-c Figura schematica di traslocazioni reciproche e (*in alto*) modello di riarrangiamento meiotico tetraivalente. Segregazioni vantaggiose sono le alterne (1-4 e 2-3) sono svantaggiose le segregazioni adiacente 1 (1-3 e 2-4) e adiacente 2 (1-2 e 3-4). Da [28], con autorizzazione

■ 3.3.2 Inversioni pericentriche e paracentriche

Le inversioni si definiscono “pericentriche” o “paracentriche” a seconda che il segmento invertito comprenda o no il centromero. Entrambe le forme possono dare luogo a segregazioni meiotiche svantaggiose, con formazione di gameti sbilanciati. Il rischio però si ritiene possibile solo nel caso che il segmento invertito abbia una certa dimensione (superiore a 100 milioni di basi), il che corrisponderebbe a una piccola sottobanda dei cromosomi ottenuti ad alta risoluzione. È importante tenere presente questa particolarità, in quanto le inversioni molto piccole non giustificherebbero (nei Paesi ove è consentito) le analisi preimpianto [29]. L'uso di sonde centromeriche non ha dimostrato aumento di aneuploidie nei gameti di maschi portatori di inversione paracentrica [30]. Il dato merita però ulteriori conferme.

■ 3.3.3. Varianti eterocromatiche polimorfiche

Il polimorfismo dell'eterocromatina costitutiva è proprio delle coppie dei cromosomi 1, 9 e 16. È caratterizzato dalla diversa estensione e/o dall'inversione della regione e si ritiene che non abbia effetti sul fenotipo. L'eterocromatina non ha infatti ruoli codificanti; anche i NOR (strutture proprie dei cromosomi acrocentrici e che contengono solo geni per la codificazione degli rRNA) mostrano polimorfismi non significativi. Le opinioni a proposito non sono però tutte concordi. In coppie infertili o con storia anamnestica di aborti ricorrenti, il polimorfismo delle regioni eterocromatiniche è stato trovato più frequente dell'atteso. Le inversioni pericentriche che comprendono la costrizione secondaria del cromosoma 9 sono in genere considerate varianti normali, senza significato patologico. Analisi sequenziali della regione 9qh hanno però dimostrato che in realtà questo tratto è altamente polimorfico con numerosi tratti duplicati e deleti. Questo dato non deve suscitare sorpresa, poiché studi recenti fanno ritenere che circa il 10% del genoma umano sia duplicato, con il rischio, tra l'altro, di ricombinazioni anomale per crossing over ineguali. È stato anche visto che in risposta a stress ambientali si ha l'attivazione trascrizionale dei domini dell'eterocromatina costitutiva, il che comprova che la regione non è costituita soltanto da materiale genico inerte. Da uno studio recente è risultato che in coppie candidate alla FIVET per infertilità o ripetuta abortività, un terzo dei maschi e un quinto delle femmine avevano varianti polimorfiche, in percentuale quindi molto più alta dell'atteso [31]. Qualche Autore ritiene che in alcuni casi l'inversione pericentrica del cromosoma 9, per ragioni sconosciute, possa contribuire a ridurre la fertilità, agendo sulla spermatogenesi. Convaliderebbe questa ipotesi lo studio condotto su 18 maschi con inversione pericentrica del cromosoma 9. Cinque erano azoospermici, e due avevano anche una microdelezione AZF; gli altri 13 non erano azoospermici, ma avevano astenozoospermia; nello stesso studio veniva riscontrato inoltre un aumento di diploidie, facendo con ciò sospettare un effetto sulla normale segregazione meiotica [32]. Il dato però non trova altre segnalazioni nella letteratura.

4 Cause geniche dell'infertilità maschile

Le malattie genetiche sono dovute a geni mutati. Le malattie mendeliane conosciute sono più di quattromila; il numero elevato si spiega considerando che il genoma umano possiede non meno di quarantamila geni attivi; una modificazione (mutazione) che ne alteri la funzione o la struttura (spesso per sostituzione o perdita di una o più basi) può occorrere in ognuno di essi. Le mutazioni sono eventi spontanei, ma possono anche essere indotte, ad esempio, in conseguenza a esposizione a particelle ionizzanti (raggi X). Le mutazioni sono i fattori che assicurano la variabilità delle specie viventi, necessaria a salvaguardare la capacità di adattamento all'ambiente che muta. Sono quindi uno dei principali meccanismi dell'evoluzione. Assieme alle mutazioni vantaggiose di cui non ci accorgiamo, avvengono anche mutazioni svantaggiose che inducono malattie o malformazioni congenite, che la selezione naturale tende ad eliminare dal pool genico. Un numero significativo di mutazioni sono letali e, se provocano un arresto di sviluppo dell'embrione in epoca precocissima della gestazione, è difficile o impossibile averne documentazione. Per indurre un difetto grave di una funzione o di una struttura è sufficiente talvolta la sostituzione o la mancanza anche di una sola coppia di basi.

Tutte le malattie ereditarie sono genetiche, ma non tutte le malattie genetiche sono necessariamente ereditarie. Si ereditano infatti solo i caratteri contenuti nei geni delle cellule germinali. Mutazioni delle cellule somatiche, anche se avvengono nell'embrione o nel feto, non sono trasmissibili. I tumori sono tutti genetici, ma solo pochi sono anche ereditari.

Per quanto concerne l'infertilità, bisogna distinguere la "genetica nell'infertilità" (le mutazioni geniche che inducono infertilità) dalla "infertilità nelle malattie genetiche" (le malattie genetiche in cui l'infertilità è uno dei caratteri della malattia). L'infertilità è infatti una componente frequente delle malattie genetiche ereditarie. Gli studi di biologia molecolare hanno consentito di riconoscere le basi eziopatogenetiche di molte infertilità maschili, aprendo la via anche a futuri approcci terapeutici. Consideriamo qui di seguito la genetica nella infertilità, mentre l'infertilità nelle malattie genetiche è argomento dell'accluso CD.

■ 4.1 Principali mutazioni geniche dell'infertilità maschile

La conoscenza dei fattori genetici che portano alla riduzione o all'assenza della spermatogenesi è tuttora uno degli aspetti più importanti della ricerca scientifica. Si conoscono molti geni che regolano lo sviluppo, la differenziazione e la funzione delle cellule germinali. La maggior parte sono sul cromosoma Y, ma ne sono stati individuati anche sul cromosoma X e su alcuni autosomi.

I più noti, di cui si conoscono in parte le funzioni, sono i seguenti.

AZF (Azoospermia Factor) è una vasta regione genica posta sul braccio lungo del cromosoma Y (Yq11.2) necessaria per lo sviluppo delle cellule germinali. Comprende tre sottoregioni indicate con le lettere a,b,c. Delezioni interstiziali della regione sono state individuate anche nella sindrome delle sole cellule di Sertoli. Nella stessa regione sono stati identificati diversi geni della spermatogenesi.

DAZ (Deleted in Azoospermia) mappa su Yq11. È trascritto nel testicolo maturo e codifica per una proteina RNA-legante. DAZ è una famiglia (*cluster*) di geni compresi su un'area di circa un milione di paia di basi (1Mbp) conosciuti come DAZ1, DAZ2, DAZ3, DAZ4 [33]. È ancora incerto se AZF e DAZ1 siano lo stesso gene o geni diversi. Delezioni anche parziali del gene DAZ sono state trovate in soggetti con infertilità idiopatica [34].

RBM1 (RNA-Binding Motif protein 1) è un gene della spermatogenesi che si trova nella sottoregione AZFb. È attivo negli spermatogoni, nella prima fase della formazione degli spermatozoi e nei tubuli seminiferi dell'adulto. Il suo omologo, *RBMX*, è sul cromosoma X ed è un regolatore della ovogenesi. La delezione RBM, potendo indurre una oligozoospermia non severa, può consentire naturali concepimenti attraverso i quali la mutazione viene ereditata da tutti i figli maschi.

DAZLA (autosomal homologue of DAZ, deleted in azoospermia homolog) che mappa su 3p24 e *SRY (Sex-determining gene)* che mappa su Yp sono implicati nella spermatogenesi.

Polimorfismi dei geni *ZNF214* e *ZNF215* sono stati associati alla subfertilità maschile. Questi geni mappano nella regione 11p15 dove è localizzato il gene della sindrome di Beckwith-Wiedemann che comporta, tra l'altro, ridotta fecondità e criptorchidismo.

ZFY è un gene della regione pseudoautosomica che codifica per una proteina ricca di zinco (appartenente alla famiglia delle *protein-zinc-fingers*). Ha funzioni di regolazione, ma non entra nella differenziazione sessuale.

SRY (Sex-determining region Y) è un importante gene che mappa sul braccio corto del cromosoma Y (Yp11.3). È adiacente alla regione pseudoautosomica, che ha forte omologia con la corrispondente regione sul cromosoma X. Questa peculiarità consente uno scambio di materiale genico tra le due regioni all'appaiamento meiotico. SRY non ha funzioni regolatrici della fer-

tilità maschile, ma indirizza gli embrioni con cariotipo 46,XY verso un fenotipo maschile. Le sue mutazioni o l'assenza inducono la sindrome di Swyer, caratterizzata da un fenotipo femminile e cariotipo maschile 46,XY. È stato dimostrato che i maschi XX hanno fenotipo maschile, perchè posseggono il tratto Yp contenente SRY traslocato sul cromosoma X o più di rado su un autosoma. SRY era in passato conosciuto come TDF (*Testis-Determining Factor*), gene ritenuto già alla metà del secolo scorso, pur senza conoscerne a quel tempo la struttura, il fattore che consente il passaggio dalla gonade indifferenziata a quella differenziata maschile. Durante l'embriogenesi la gonade indifferenziata dà quindi origine a un fenotipo femminile, sia nei concepiti con cariotipo XX, che in quelli XY mancanti del gene SRY. In entrambi i genotipi, in uno stadio precoce di sviluppo, l'apparato genitale si trova quindi in uno stadio indifferenziato. La presenza del cromosoma Y in possesso del gene SRY è determinante nell'indirizzare la gonade ancora indifferenziata nel testicolo che, successivamente, attraverso la sua funzione ormonale, consente la formazione dei caratteri sessuali maschili. I rari casi di sindrome di Swyer con SRY positivo [35] si ritiene che siano dovuti all'azione temporanea di un ormone antimulleriano. Il fenotipo è femminile con assenza dei caratteri sessuali secondari, il cariotipo 46,XY, l'utero ipoplasico e le gonadi sono disgenetiche.

SOX9 è un gene che mappa sul cromosoma 17q e coopera con SRY alla determinazione del sesso maschile. Le sue mutazioni infatti sono state trovate nel nanismo camptomelico, una condrodisplasia scheletrica letale che nei maschi 46,XY può dare pseudoermafroditismo, fino alla condizione di sesso inverso (*sex reversal*).

WT1 (*Wilms Tumor1*) mappa su 11p13 ed è un gene della differenziazione testicolare.

SF1 (*Steroidogenic Factor1*) mappa su 9q; come WT1, è un gene della differenziazione testicolare.

PRM1, PMR2 o TNP2 sono geni responsabili della formazione degli istoni del DNA della testa degli spermatozoi [36].

È stato di recente ideato un metodo rapido e semplice per scoprire nei maschi infertili le principali microdelezioni con una PCR multipla (*multiplex PCR*) che amplifica simultaneamente 5 loci sul cromosoma Y: SRY, AMELY, DBY, RBMY, DAZ e il locus AMELIX sul cromosoma X [37].

L'inibina B è una glicoproteina dimerica serica, direttamente secreta dal testicolo, prodotta dalle cellule di Sertoli. Interviene nella spermatogenesi e i livelli serici sono influenzati dall'età, dal volume testicolare, ecc. È utile nella valutazione della fertilità maschile. La sua determinazione viene anche utilizzata per una valutazione dei danni sulla spermatogenesi provocati da chemioterapia e/o radioterapia e anche per avere conto dei risultati dopo terapie per il criptorchidismo e il varicocele. Nelle tecniche di fecondazione assistita vengono tenuti in considerazione i valori di questo marker per il loro significato anche prognostico. Utile è il rapporto inibina B/FSH che, nella infertilità, risulta più basso dei valori normali attesi [38].

■ 4.2 Infertilità da microdelezioni del cromosoma Y (microdelezioni AZF, *Azoospermia Factor*)

Si ritiene che circa 10% delle azoospermie od oligozoospermie idiopatiche siano dovute a parziali delezioni dei bracci lunghi del cromosoma Y [39]. AZF mappa in una regione prossimale che è sede frequente di delezioni. Le microdelezioni dell'intera regione o delle sue sottoregioni (a, b, c) sono causa di azoospermia o severa oligozoospermia. Si ritiene che le microdelezioni della subregione AZFc siano tra le cause più frequenti di ridotta o assente spermatogenesi. Oltre alla riduzione numerica, le microdelezioni di AZF causano anche difetti strutturali degli spermatozoi, che indicano apoptosi e immaturità [40]. Molti studi statistici concordano nel ritenere che le microdelezioni di AZF si trovano nel 10% delle azoospermie non ostruttive e nel 5% di tutte le oligozoospermie di grado severo. In percentuali inferiori (1-2%) sono state trovate nelle infertilità con un numero di spermatozoi superiore a 2 milioni/ml. Su osservazioni condotte in un decennio Ferlin e coll. [41] riferiscono gli studi condotti su 625 maschi con azoospermia non ostruttiva, 1370 oligozoospermici e 99 con microdelezioni del cromosoma Y. In questi studi venne osservato che la maggior parte delle microdelezioni avvenivano su AZFc. Microdelezioni AZFa e AZFb sono state trovate rispettivamente nella sindrome da sole cellule di Sertoli e in casi di ridotta maturazione degli spermatozoi. Veniva anche confermato che, nelle microdelezioni parziali delle sottoregioni, la prognosi funzionale è migliore, come testimonia la presenza frequente di spermatozoi vitali. Le microdelezioni AZF assumono quindi significato prognostico; non si associano però a un particolare fenotipo, per cui non vi sono dati clinici utili per sospettare la presenza di queste mutazioni. Si avverte la necessità di avere ulteriori conoscenze di questa vasta regione molecolare, perché restano ancora da chiarire molti aspetti clinici e molecolari, tra cui la possibile esistenza di correlazioni fenotipo-genotipo non ancora evidenziate. In rari casi una subinfertilità dovuta alla parziale microdelezione AZFc è stata trovata associata a varianti aploipiche del cromosoma Y; incerto però è il rapporto di queste varianti con la subfertilità [42]. Sembra però possibile che alcuni aplogruppi del cromosoma Y possano predisporre all'infertilità.

Quando viene eseguita la ICSI, avviene la trasmissione ereditaria delle mutazioni AZF ai concepiti maschi. Salmi e coll. [43], hanno studiato una famiglia dove la microdelezione AZFb era presente nel probando infertile, nel genitore e nei suoi tre fratelli sani.

■ 4.3 Sindrome di Del Castello (*Sertoli Cell-Only Syndrome*)

Le cellule del Sertoli originano dalle cellule epiteliali della parete dei tubuli seminiferi primitivi. La loro funzione è di secernere AMH, l'ormone antimulleriano prodotto dal gene MIF, in assenza del quale si ha la sindrome definita "pseudomafroditismo interno maschile". Le cellule di Sertoli secernono anche l'inibina. Nella stessa parete dei tubuli si trovano le cellule germinali primordiali, per cui nella sindrome da sole cellule di Sertoli (SCO) vi è l'assenza totale o parziale delle cellule germinali nei tubuli seminiferi. Se l'assenza è totale, la sindrome si definisce del tipo I (SCO I); se sono presenti cellule germinali nella minoranza dei tubuli seminiferi, la sindrome è detta di tipo II (SCO II). Quest'ultima è dovuta all'incompleta differenziazione e maturazione degli spermatozoi e degli spermatozoidi, che comporta la degenerazione delle cellule germinali nella maggioranza dei tubuli. Oltre alla SCO I e II, in cui le mutazioni sono sul cromosoma Y, si conosce anche una SCO dovuta alla mutazione di un gene *X-linked* che mappa su Xq26.2. La sindrome da sole cellule di Sertoli rientra nel gruppo degli ipogonadismi ipergonadotropi.

■ 4.4 Sindromi da deficit della steroidogenesi

La steroidogenesi testicolare e surrenalica avviene attraverso una catena di processi enzimatici a partire dal colesterolo. A seconda del livello in cui avviene l'arresto o il difetto enzimatico, risultano sindromi genetiche che hanno espressioni cliniche differenti, con disturbi della differenziazione sessuale e della virilizzazione molto diversi.

I difetti della steroidogenesi surrenalica possono andare da una lieve ipospadia alla completa o parziale femminilizzazione (pseudomafroditismi maschili).

■ 4.5 Iperprolattinemia

L'iperprolattinemia è rara nel maschio. Può essere causa di infertilità in quanto la prolattina inibisce la secrezione delle gonadotropine e la steroidogenesi; inoltre riduce l'attività dell'5 alfa-reduttasi e quindi la trasformazione periferica di T in DHT. Le cause di iperprolattinemia sono molteplici: dal-

l'uso di particolari farmaci (oppiacei, psicofarmaci neurolettici, estrogeni, antiipertensivi ad azione centrale) ai tumori o altre patologie dell'asse ipotalamo-ipofisario. Un dosaggio basso di T con normali livelli di LH deve fare sospettare anche un tumore dell'ipofisi. Iperprolattinemia è stata riscontrata anche nell'ipotiroidismo primitivo, nella cirrosi epatica e nell'insufficienza renale cronica.

■ 4.6 Disgenesia testicolare (*Testicular Dysgenesis Syndrome, TDS*)

Sotto la dizione di sindrome della disgenesia testicolare si collocano cause diverse, in parte ancora sconosciute, che alterano il programma di sviluppo delle gonadi durante la vita fetale. Oltre che da cause intrinseche, TDS potrebbero essere indotte da fattori ambientali nocivi, come, ad esempio, pesticidi e ambienti di lavoro dannosi. Sono espressione di TDS: il criptorchidismo, l'ipospadia, il varicocele. Disgenesie gonadiche sono anche cromosomiche, pure e miste (XX/XY) e l'ermafroditismo 46,XY dove restano ancora non compresi i legami patogenetici. La disgenesia testicolare è stata messa anche in relazione con l'insorgenza del cancro del testicolo.

Oltre che nelle TDS cosiddette primitive, la disgenesia testicolare si riscontra anche alla biopsia testicolare di soggetti infertili e criptorchidi. Unitamente alle modifiche dell'architettura testicolare, si osserva in questi casi displasia dei tubuli, cellule di Sertoli indifferenziate o sole, microliti intratubulari, e altri disordini.

■ 4.7 Criptorchidismo

Il criptorchidismo è la mancata migrazione nello scroto di uno o di entrambi i testicoli. Durante l'embriogenesi i testicoli si differenziano nella regione lombare superiore e vi restano fino all'VIII settimana di sviluppo; inizia quindi il lento processo di migrazione verso lo scroto; alla fine del III mese sono già all'anello inguinale profondo e dopo il VII mese si trovano nel canale inguinale; al nono mese sono nella borsa scrotale. L'ultima fase di discesa nello scroto è sotto il controllo ormonale, ciò che giustifica l'impiego degli ormoni androgeni e gonadotropi nel trattamento farmacologico del criptorchidismo. La mancata discesa dei testicoli si osserva nel 3-5% dei nati a termine e in circa 20% dei nati prematuri. Il testicolo ritenuto (criptorchidismo) deve essere differenziato dal testicolo ectopico, dall'anorchidia e dal testicolo retrattile. Spesso si rivela un fenomeno transitorio, poiché i testicoli possono spontaneamente scendere nel sacco scrotale nei primi mesi dopo la nascita. In diversi casi il difetto è associato a disfunzioni ipotalamo-ipofi-

sarie o ad anomalie dei genitali (ipospadia, micropene) entrando così a fare parte di complessi sindromici genetici. Alla pubertà, i valori delle gonadotropine e degli ormoni testicolari sono dimostrativi di una normale funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade. Il fattore 3 insulino-simile (*INSulin-Like factor 3*, INSL3) è un peptide espresso nelle cellule di Leydig che determina la discesa del testicolo durante lo sviluppo embrionale. Le mutazioni del gene di questo peptide possono essere causa di criptorchidismo. Livelli molto bassi di INSL3 sono stati riscontrati in casi di severa infertilità e dimostrano il grado di sofferenza delle cellule di Leydig più che del testosterone. La produzione di INSL3 è connessa a LH, al pari dell'asse LH-testosterone [44]. È stato dimostrato che anche il MIF (fattore inibente mulleriano, ormone antimulleriano) è necessario per la migrazione intra-addominale del testicolo. Oligozoospermia si riscontra in circa un terzo dei casi di criptorchidismo monolaterale e nella metà delle forme bilaterali. La completa discesa delle gonadi maschili richiede comunque una funzione normale dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo, come è dimostrato da numerose sindromi genetiche, in cui la compromissione funzionale ormonale si associa molto spesso al criptorchidismo.

Nella maggioranza dei casi i testicoli si fermano all'inizio del canale inguinale, ma possono trovarsi in qualunque sede lungo la normale via di discesa, per cui i criptorchidismi si classificano in inguino-scrotali (70%), inguinali (20%) e addominali (10%). I rischi associati al criptorchidismo sono essenzialmente l'infertilità e la degenerazione tumorale. Si ritiene che la ritenzione permanente addominale dei due testicoli induce sempre infertilità [45]. Le cause di questa associazione, certamente non casuale, non sono del tutto note. In percentuale non trascurabile (>10%) sono state trovate microdelezioni nella regione AZF di pazienti con criptorchidismo o varicocele [46]. Poco frequente invece sembra essere l'associazione del criptorchidismo con le mutazioni del gene DAZ [47]. Si è talvolta notato che un tumore è insorto nel testicolo controlaterale a quello ritenuto. È stata trovata pure una significativa relazione tra l'abuso di sigarette durante la gravidanza e la nascita di maschi con criptorchidismo bilaterale e conseguente riduzione degli spermatogoni e dei gonociti [48]. Anche l'esposizione materna ad alcune sostanze tossiche (in particolare pesticidi) è stata ritenuta una causa di insorgenza del difetto [49]. L'intervento correttivo (orchiopessia) è consigliato normalmente già nel primo anno di vita per preservare la fertilità [50-52]. La prognosi funzionale dipende in parte dalla precocità della terapia. Quando è bilaterale la biopsia testicolare è indicata per una valutazione del grado di fertilità; al tempo stesso la biopsia testicolare consente di valutare il numero degli spermatogoni e dei gonociti. Non è sicuro se i livelli serici dell'inibina B e di FSH riflettono lo stato di funzionalità; lo studio di tali livelli potrebbe essere utile per una valutazione della futura funzionalità del testicolo, ma i pareri in proposito non sono concordi. Si ritiene che bassi valori di FSH debbano fare sospettare un ipogonadismo ipogonadotropo, soprattutto se associati a bassa concentrazione di inibina B [53].

Va tenuto presente che l'orchiopessia, anche se eseguita precocemente, non garantisce sempre una futura normale funzione del testicolo; quando infatti la biopsia dimostra danni funzionali gravi, l'intervento correttivo non impedisce l'insorgere nel tempo dell'infertilità [54]. La correzione chirurgica è indicata nelle ectopie testicolari (per testicoli quindi lontani dalla normale sede) e quando fallisce la terapia medica (somministrazione di gonadotropina corionica umana alla dose di 50 UI/kg/settimana per 6 settimane consecutive). La terapia medica non viene eseguita nel caso di associato varicocele, ernia inguinale e cisti del cordone spermatico. Viene talvolta ritenuto utile, in occasione della biopsia, criopreservare i frammenti prelevati da utilizzare per una fecondazione *in vitro*. A questo proposito risultati positivi sono stati riferiti su soggetti con infertilità non ostruttiva e che erano stati operati di orchiopessia [55, 56].

Il criptorchidismo deve essere differenziato anche dal cosiddetto "testicolo retrattile" (pseudocriptorchidismo), condizione in cui il testicolo è nello scroto, ma saltuariamente raggiunge l'anello inguinale; la risalita è consentita da un abnorme riflesso cremasterico associato a lassità del *gubernaculum testis* e della fascia fibrosa. Il testicolo retrattile è quasi sempre bilaterale. È stato ritenuto anche causa di oligoastenospermia, teratospermia e, più di rado, azoospermia [57].

■ 4.8 Varicocele

Il varicocele è una malattia vascolare dovuta a una alterazione emodinamica del plesso pampiniforme, la rete di drenaggio venoso dei testicoli. Può indurre dolore e gonfiore scrotale, ma molte volte è clinicamente asintomatico (forme subcliniche) e svelabile solo con esami strumentali, quali l'ultrasonografia e l'eco Doppler. Sono questi i mezzi diagnostici strumentali più usati, mentre la termografia conserva ormai scarso interesse diagnostico [58, 59].

L'eziopatogenesi è ancora incerta. Viene fatta una distinzione tra "forme primitive", senza cioè apparenti cause, e "forme secondarie" a fattori che ostacolano il deflusso venoso per compressione sulla vena testicolare, renale o sulla cava inferiore. Tra gli eventuali cofattori che possono favorirne l'insorgenza, sono stati considerati la prolungata stazione eretta e la lunghezza della vena gonadica. L'obesità sembra essere un fattore predisponente, in quanto il tessuto adiposo può creare difficoltà al deflusso nella vena renale di sinistra [60]. La suscettibilità genetica non può essere esclusa, come dimostra la non rara familiarità e la non casuale ricorrenza familiare di altre patologie venose (varici agli arti inferiori, emorroidi).

La frequenza delle forme asintomatiche si ritrova in 1/3 dei maschi adulti [61]. La sede più frequente è nel testicolo sinistro, ma non raramente il difetto è bilaterale. La maggiore evidenza clinico-strumentale a sinistra ha ragioni anatomiche, in quanto da questo lato la colonna di sangue venoso è più lunga e quindi determina una maggiore pressione idrostatica. Sono

ancora controversi i pareri sulla possibile relazione fra varicocele e infertilità, nonostante i numerosi studi epidemiologici e fisiopatologici [62, 63]. I dubbi sorgono soprattutto nelle forme di varicocele asintomatico subclinico. Non è stata infatti ancora data una risposta esauriente alle domande: è il varicocele una causa, una concausa, o semplicemente un “indicatore” della infertilità? In che modo un varicocele monolaterale può provocare disfunzione testicolare bilaterale e quindi infertilità? Vero è che l'associazione delle due patologie è frequente e di certo non casuale, se si considera la sua presenza nel 40% dei maschi infertili [64]. Con i metodi strumentali le forme asintomatiche subcliniche si diagnosticano in alta percentuale di maschi che sono fertili, per cui uno stretto rapporto varicocele asintomatico-subfertilità, da molti ipotizzato, non è del tutto convincente. Ne è prova il fatto che, spesso, dopo l'intervento chirurgico, i parametri seminali risultano del tutto immutati. Si è anche tentato di stabilire se il risultato di un intervento chirurgico correttivo sia correlato al grado di varicocele. Va ricordato che un varicocele si definisce: “subclinico” quando è dimostrato solo con indagine strumentale; di “I grado” se vi è un reflusso reno-spermatoc; di “II grado” se il reflusso è iliaco-testicolare; di “III grado” quando sono presenti entrambi i tipi di reflusso. Il varicocele di I grado è la forma di gran lunga più frequente e clinicamente più lieve. Si ritiene che le conseguenze negative sulla funzionalità testicolare siano dovute all'aumento della temperatura locale correlata alla stasi venosa. Anche l'ipossia da stasi venosa e le infiammazioni croniche possono causare un danno funzionale testicolare. In alcuni processi infiammatori, il varicocele è stato trovato associato a modifiche biochimiche dei secreti degli epididimi e delle cellule spermatiche.

In pazienti con varicocele sono stati rilevati alti livelli di danno ossidativo come pure modifiche strutturali del DNA [64, 65]

Va a proposito ricordato che alcuni metaboliti prodotti nei cicli ossidativi della vita degli spermatozoi, chiamati ROS (*Reactive Oxygen Species*) possono liberare radicali liberi che sono tossici per la cellula. Lo stress ossidativo viene studiato valutando alla chemio-luminescenza la capacità antiossidante; per il danno che induce alla catena del DNA, è considerato una causa della infertilità maschile. Gli studi di istopatologia hanno dimostrato che nei casi di associazione varicocele-subfertilità sono interessati tutti i distretti testicolari, con prevalenza delle pareti tubulari e delle cellule interstiziali. Le modifiche apportate al *pattern* seminale non sono però patognomiche. Non è infrequente, ad esempio, il riscontro di anticorpi antispermatozoi; anche alcuni parametri ormonali si possono trovare modificati, come un aumento di FSH e LH e un ridotto testosterone ematico. Questi esami non rappresentano un test valido per prevedere i benefici di un intervento chirurgico; è infatti la biopsia testicolare che mantiene il suo indiscutibile valore diagnostico e prognostico.

L'origine della stereocilia non è facile da accertare, ma sembra di origine epididimale, legata a disfunzione dell'organo. Altri fattori responsabili sono ritenuti il fumo di sigaretta e interventi traumatizzanti, anche chirurgici, sui testicoli.

La cura del varicocele si attua con la terapia chirurgica (varicocelectomia bilaterale o monolaterale), con la terapia microchirurgica che utilizza il microscopio operatore e con la terapia con sostanze sclerosanti-embolizzanti. Non esiste per il varicocele una terapia farmacologia sostitutiva a quella chirurgica. La previsione di quanto la varicocelectomia possa migliorare il quadro d'infertilità iniziale è spesso difficile. Miglioramento funzionale, valutato anche in base ai valori di FSH, testosterone e al volume testicolare, è stato riscontrato dopo intervento (legamento) in soggetti meno giovani (eta >40 anni) in confronto ai più giovani. Non mancano opinioni secondo cui i trattamenti chirurgici o radiologici del varicocele nelle subfertilità siano inopportuni [66]. È stato dimostrato che i pazienti con arresto maturativo traggono dall'intervento risultati migliori di quelli con aplasia delle cellule germinali [67]. Nei casi di varicocele di grado III un basso livello di FSH unitamente a una non ridotta motilità fa prevedere nei casi di subfertilità associati al varicocele migliori risultati dagli interventi di varicocelectomia. Un esame comparativo è stato condotto su tre categorie di pazienti con varicocele: adolescenti, adulti infertili e adulti fertili. Complessivamente non sono state notate significative differenze tra i tre gruppi, che comunque dimostravano di avere ricavato giovamento funzionale dall'intervento [68]. Risultati migliori sul recupero della fertilità si sono osservati dopo la varicocelectomia bilaterale in confronto alla monolaterale [69].

■ 4.9 Torsione del funicolo

La “torsione funicolare” induce danni vascolari, che possono essere causa di subfertilità. La torsione è causata dall'eccessiva lunghezza del *gubernaculum testis*. L'anomala lunghezza è bilaterale ed è una malformazione congenita, anche se la torsione si verifica spesso da un solo lato e di rado prima della pubertà. Ha una frequenza di 1:4000 maschi post-puberi. Ha eziologia genetica con trasmissione autosomica *sex-limited* o *Y-linked*. Richiede un tempestivo intervento chirurgico per evitare un'irrimediabile compromissione funzionale del testicolo. Talvolta segue la comparsa di anticorpi per un processo di autoimmunizzazione.

■ 4.10 Ipospadi e altre rare anomalie dei genitali esterni

Sono malformazioni frequenti, isolate o in associazione sindromica, a eziologia spesso genetica, ma anche ambientale, come le forme secondarie alla somministrazione di progestinici in gravidanza. I gradi di ipospadia sono variabili, potendo il meato uretrale essere situato in posizioni diverse, dal glande al perineo. In base alla posizione, le ipospadie si classificano in forme lievi o distali, intermedie, perineo-scrotali, fino a quelle più gravi con

apertura del meato nella regione scrotale o perineale.

L'assenza dei testicoli (anorchia), l'agenesia del pene (afallia), il pene bifido (difallia) si ritengono difetti embriogenetici non ereditari.

■ 4.11 Anorchia congenita

Una sindrome che ha una probabile eredità autosomica recessiva è l'anorchia congenita, conosciuta anche con il nome di *vanishing testis*: il cariotipo è maschile 46,XY e il fenotipo può presentare gradi variabili di ambiguità, anche se la differenziazione sessuale è quasi sempre in senso maschile. Questa osservazione comprova che prima di "svanire", le gonadi abbiano avuto un periodo di attività sufficiente a indirizzare il fenotipo nella direzione programmata dal genotipo.

■ 4.12 Pseudoermafroditismi

I termini di pseudoermafroditismo maschile e femminile si riferiscono al genotipo e non ai caratteri fenotipici dell'individuo. Un sesso ambiguo con cariotipo 46,XX è uno pseudoermafroditismo femminile, anche se presenta caratteri di forte virilizzazione. Una femminilizzazione testicolare incompleta, in cui il fenotipo è femminile, si definisce pseudoermafroditismo maschile, in quanto il cariotipo è 46,XY.

La "sindrome da persistenza dei dotti di Muller" (MIF) è conosciuta anche come pseudoermafroditismo interno maschile o sindrome dell'ernia inguinale uterina. Ha eredità autosomica recessiva o *X-linked*. Il fenotipo è maschile con cariotipo 46,XY. Sono presenti le tube di Falloppio, testicoli criptorchidi e utero rudimentale. A seconda che vi sia presenza o assenza di ernia inguinale, sono state considerate due diverse forme della sindrome.

Alcune disgenesie gonadiche, cromosomiche e non, come pure alcuni difetti della steroidogenesi possono dare origine a pseudoermafroditismi sia maschili che femminili.

■ 4.13 Sex reversal

Alcune malattie genetiche inducono in soggetti con genotipo XY un sesso fenotipico invertito (fenotipo femminile-genotipo maschile). Come è stato detto in precedenza, le mutazioni o l'assenza del gene SRY, inducono la sindrome di Swyer, un esempio di *sex reversal*. Il gene SOX9 coopera con SRY nella differenziazione maschile.

È stata inoltre riconosciuta nei soggetti con *sex reversal* una regione duplicata sul braccio corto, a sua volta dipendente dalle funzioni di altri due geni (DAM e DAX) che mappano nella stessa regione. Il doppio dosaggio di DSS (*Dosage Sensitive Sex Reversal*) impedisce la differenziazione della gona-de in testicolo e quindi, come accade nel caso del gene SRY, impedisce nell'embriogenesi la formazione di un fenotipo maschile. Il meccanismo patogenetico è però del tutto differente, perché mentre nel caso del gene SRY la mancata differenziazione è dovuta alla sua mancanza, il gene DSS ostacola la differenziazione quando è in doppia dose. Si conoscono numerose sindromi con *sex reversal* (vedi CD). La più conosciuta è la sindrome di Morris, ma in questo caso la patogenesi è del tutto diversa, perché la sindrome dipende dalla mancata risposta dei recettori al testosterone. Va infine detto che il maschio XX si trova in una condizione solo apparente di *sex reversal*, in quanto il cariotipo 46,XX nasconde sempre la regione del cromosoma Y, che contiene il gene funzionante SRY.

■ 4.14 Pubertà ritardata

Si definisce “pubertà ritardata” la condizione in cui le modificazioni delle gonadi e dei caratteri sessuali secondari avvengono dopo i 4 anni di età. Le cause possono essere genetiche o dovute a fattori esterni non genetici (malnutrizione, le malattie croniche dell'infanzia, insufficienza renale cronica, ipotiroidismo o diabete non trattati, ecc.). Vengono qui considerate le cause genetiche che configurano due forme di ipogonadismi, detti rispettivamente ipogonadotropi e ipergonadotropi. Entrambe le forme comportano di solito genitali di dimensioni ridotte. Ma, se gli ipogonadismi sono associati sempre (o quasi sempre) a “genitali piccoli”, non vale il contrario. Vanno anche considerati i casi in cui i genitali sembrano piccoli solo in apparenza, come è il caso di un eccessivo tessuto adiposo soprapubico, che può far sospettare, a un'osservazione superficiale, un micropene.

■ 4.15 Pubertà precoce

Si definisce “pubertà precoce” la condizione in cui le modifiche delle gonadi e i caratteri sessuali secondari si manifestano prima dei 9 anni di età. Vi è una forma idiopatica o vera, che è spesso familiare, senza alcuna rilevanza patologica. Altre cause possono invece avere rilevanza prognostica, specie quando dipendono da tumori del sistema nervoso centrale (SNC) (astrocitoma, amartoma dell'ipotalamo, glioma del nervo ottico). Anche in altre patologie non tumorali del SNC si può notare una pubertà precoce (idrocefalo, cisti aracnoidi, malformazioni vascolari associate a sindromi amartomatose, ecc.), comprese anche le ginecomastie puberali.

L'eccessiva produzione di ormoni steroidei produce quadri clinici che vengono definiti di pseudopubertà precoce. Ne sono causa le sindromi da aumentata secrezione di androgeni surrenalici o testicolari e i tumori secernenti gonadotropine. Queste malattie possono indurre nelle bambine quadri di pseudoermafroditismo. Viceversa, quadri di precocità sessuale con segni di femminilizzazione possono essere indotti nei maschi da alcune sindromi genetiche (ad esempio, nella sindrome di Peutz-Jeghers o nel deficit di 11 alfa-idrossilasi).

■ 4.16 Ipogonadismi ipogonadotropi e ipergonadotropi

La differenza tra le due tipologie di ipogonadismi è eziologica, in quanto i primi sono secondari a disfunzione dell'ipofisi o dell'ipotalamo, mentre i secondi sono dovuti a disfunzione primitiva delle ghiandole sessuali. Dal punto di vista bio-umorale la differenza tra i due ipogonadismi sta nel fatto che nei primi le gonadotropine (LH e FSH) sono basse o assenti, e in alcuni casi manca la risposta al GnRH; un livello elevato delle gonadotropine sieriche è invece caratteristico nel caso di patologie gonadiche primitive (testicolari o ovariche).

Naturalmente le malattie dell'ipofisi (infettive, autoimmuni, tumorali, ecc.) oltre alla possibile insorgenza di ipogonadismo ipogonadotropo, producono una complessa variabilità di patologie, isolate o associate (diabete insipido, iperprolattinemia, arresto della crescita, insufficienza surrenalica e tiroidea).

Nel CD allegato sono riportate in due *short report* le più frequenti cause genetiche di questi disordini. Una condizione eterogenea e talvolta ereditaria di ipogonadismo ipergonadotropo femminile con normale cariotipo è conosciuta come disgenesia ovarica ipergonadotropica (ODG, *Ovarian Disease of Gonadotropin*). Con analisi di *linkage* è stato possibile mappare un locus di questa affezione sul cromosoma 2p. Poiché in casi di ODG sono state trovate mutazioni del gene FSHR (*Follicle-Stimulating Hormone Receptor*), che mappa su questa regione cromosomica, si è concluso che in alcune famiglie la mutazione di FSHR sia responsabile di ODG [70].

■ 4.17 Ovaio policistico (OPC)

Riteniamo opportuno, tra le cause della infertilità, fare un richiamo a questa patologia femminile, che viene considerata la più frequente causa di infertilità anovulatoria, e che colpisce una donna su 20. È caratterizzata da iperandrogenismo, arresto dello sviluppo follicolare, resistenza all'insulina, anomala risposta alla FSH.

L'ovaio policistico è una malattia genetica che non segue i modelli di trasmissione mendeliani, ma ha eziologia multifattoriale; viene considerata

una complessa endocrinopatia, al pari dell'osteoporosi, dell'obesità e del diabete tipo 2. Si ritiene che la malattia comporti anche difetti nella meiosi e/o negli iniziali stadi di sviluppo embrionale, il che concorderebbe anche con il dimostrato aumento di abortività [71].

Con analisi di *linkage* sono stati ricercati molti geni candidati, ma i risultati sono ancora insoddisfacenti. È stata studiata l'espressione genica degli ovociti, che si è rivelata differente da quella di ovociti di ovaio non policistico, anche se non è stata notata alcuna differenza morfologica [72]. Spesso queste pazienti devono ricorrere, per procreare, alla fecondazione *in vitro*.

Interessante l'ipotesi che esista nel maschio un equivalente di OPC. Il fenotipo in questo caso sarebbe rappresentato dalla prematura alopecia associata a una modificata tolleranza all'insulina [73].

5 Cause non genetiche dell'infertilità maschile

È utile un breve richiamo anche alle cause non genetiche dell'infertilità maschile, tenendo presente che comunque spesso si tratta di disordini in cui sono associati entrambi questi fattori causali.

■ 5.1 Infertilità escretorie

Le infertilità escretorie possono rientrare sia nelle cause genetiche che in quelle non genetiche d'infertilità. Sono dovute ad anomalie organiche o funzionali che impediscono la normale progressione degli spermatozoi e del liquido seminale fino al meato uretrale. La percentuale delle infertilità da ostruzione delle vie seminali si ritiene non superiore al 10%. Azoospermie ostruttive possono dipendere da interventi di vasectomia, dall'assenza dei vasi deferenti, da agenesia o infezioni croniche dell'epididimo. La malattia genetica che più di frequente comporta agenesia dei vasi deferenti è la fibrosi cistica. Vi sono anche agenesie genetiche primitive, che rientrano quindi in un contesto sindromico. Le infertilità ostruttive possono comportare una normale spermatogenesi, con presenza di spermatozoi sia nell'epididimo che nei tubuli seminiferi, da cui si possono ricavare con tecniche diverse: PESA e MESA (aspirazione percutanea o prelievo microchirurgico dagli epididimi).

Gli ostacoli sono in genere a livello del didimo, dell'epididimo o dei dotti deferenti; possono essere congeniti (agenesia dell'epididimo o dei deferenti) o acquisiti (spesso sono la conseguenza di stenosi postflogistiche). Una azoospermia associata a pH seminale acido (inferiore a 7) deve fare sospettare un'agenesia delle vescichette seminali e/o dei deferenti, mentre una azoospermia con valori normali di FSH, di LH e di testosterone, è tipica di una infertilità escretoria. Va però ricordato che anche le infertilità escretorie con severa alterazione dell'epitelio germinale, possono dare valori elevati di FSH.

La deferento-vescicolografia consente di individuare l'esatta sede di una ostruzione e può talvolta fornire informazioni anche sulle cause.

Può accadere, in questo come in altri tipi di infertilità, che le cellule germinali per la riproduzione assistita siano immature (spermatidi rotondi) per un arresto della spermatogenesi allo stadio di spermatidi. Numerosi studi hanno dimostrato che queste cellule possono essere usate per la fecondazione *in vitro*, anche se le percentuali di successo sono basse.

■ 5.2 Infertilità da infezioni

Le infezioni croniche dell'apparato urogenitale possono in maniera e in grado diverso indurre infertilità. Le orchiti sono di natura infettiva e talvolta autoimmunitaria. La più comune è l'orchite che complica la parotite epidemica. Nell'infezione contratta dopo la pubertà, la complicazione può arrecare un danno alla linea germinale, risparmiando quasi sempre la funzione endocrina; questo spiega la oligospermia di vario grado non associata alla riduzione di testosterone e di LH.

Le "malattie dell'epididimo" possono essere causa di infertilità, agendo con meccanismi differenti, infettivi, bioimmunologici e genici. L'epididimo, infatti, non è soltanto la sede di conservazione e di trasporto degli spermatozoi, ma ha un ruolo importante nella loro maturazione e attività funzionale.

Non viene esclusa anche un'attività endocrina. Le patologie dell'epididimo possono indurre azoospermie ostruttive e non ostruttive. Si è già fatto cenno alla necrozoospermia epididimale. Gli epididimi sono spesso sede di stereocilia che può produrre ostruzioni parziali e unilaterali.

Sulla capacità fecondante degli spermatozoi epididimari vi sono opinioni contrastanti. È stato dimostrato che la fertilità indotta con epididimovasostomia ha diversa probabilità in rapporto alla sede, prossimale o più distale, dell'ostacolo ostruttivo. Nelle ostruzioni più distali si sono evidenziati anticorpi *antisperm*; sembra dimostrato che la presenza di questi anticorpi sia correlata al livello di ostruzione nell'epididimo. Va comunque tenuto presente che alla ICSI, gli spermatozoi epididimali danno risultati inferiori a quelli testicolari [74].

■ 5.3 Infertilità autoimmuni

Quando si sospetta una patologia autoimmune, si deve procedere alla titolazione degli anticorpi agglutinanti, immobilizzanti e citotossici liberi. Gli spermatozoi agglutinati si presentano uniti per uno o più tratti della loro struttura (testa, coda, tratto intermedio). Normalmente si trovano in percentuale non superiore a 5%.

Anticorpi antisperma (*AntiSpermal AntiBodies*, ASAB) possono essere causa di infertilità maschile. La ricerca richiede reazioni di agglutinazione, metodiche immunoistochimiche e la citometria di flusso che dà informazioni sul contenuto in DNA delle cellule. Fattori di rischio sono considerati le infezioni degli organi riproduttivi, il varicocele, il criptorchidismo. Frequente causa di infertilità autoimmune sono le orchiti e le orchiepididimiti anche post-traumatiche. Il meccanismo con cui queste cause scatenanti inducono autoimmunità è ancora poco noto [75]. In pazienti con varicocele e subfertilità e positivi per ASAB, la varicocelectomia ha, in diversi casi, ridotto il livello anticorpale e migliorato la qualità del liquido seminale [76].

■ 5.4 Infertilità da esposizione ad agenti tossici e teratogeni

Alle molte cause cromosomiche e genetiche finora considerate, bisogna aggiungere molti agenti tossici: sostanze chimiche e fisiche, calore, farmaci, steroidi androgenizzanti usati per sostenere competizioni atletiche, radioterapia, abuso di sigarette, esposizione a radiazioni ionizzanti, a pesticidi, a metalli pesanti o solventi organici, a vibrazioni (martelli pneumatici), che possono arrecare danni alla sfera riproduttiva di entrambi i sessi.

L'abuso di alcol, come pure i trattamenti prolungati con testosterone, possono essere causa di infertilità: il primo in quanto induce la conversione del testosterone in estrogeni; il secondo perché, con un meccanismo di feedback, inibisce la secrezione delle gonadotropine.

L'uso e l'esposizione a sostanze chimiche prodotte industrialmente è impressionante. Gli effetti nocivi possono rilevarsi sulla capacità riproduttiva, ma anche sull'embrione e sul feto. Metalli pesanti come il piombo e il mercurio, steroidi naturali e sintetici, antineoplastici, insetticidi, erbicidi, fungicidi e fumiganti, additivi alimentari e numerose sostanze chimiche industriali, rientrano tra i potenziali fattori di rischio non solo perché possono essere la causa di una ridotta fertilità, ma anche per i potenziali effetti teratogeni sui concepiti. Purtroppo due ordini di fattori rendono difficile una documentazione esauriente su questo grave problema: vi è anzitutto la difficoltà di avere significativi dati statistici, trattandosi quasi sempre di danni a decorso non acuto, ma prolungato nel tempo. Ad esempio, fa notizia un danno acuto e mortale prodotto dalla ingestione di dosi anche infinitesime di paratione (usato in agricoltura al pari di altri composti ammoniacali quaternari), perché è un evento immediatamente riconoscibile. Gli effetti nocivi della stessa sostanza tossica (impunemente impiegata diluita, che contamina gli ortaggi e la frutta che si compra ai mercati), sono di impossibile verifica, perché cronici ed eterogenei (ridotta fertilità, possibile predisposizione all'insorgenza di tumori, danni funzionali epatici, ecc.). Il secondo ostacolo è creato dagli interessi economici delle industrie produttrici di queste sostanze tossiche. Naturalmente occorrerebbero politiche coraggiose (che mancano) miranti a salvaguardare anzitutto la salute dei consumatori.

■ 5.5 Cancro del testicolo

L'epoca di maggiore insorgenza è tra i 20 e i 45 anni, ciò che lascia supporre un inizio molto precoce di fattori che possono indurre la malattia. Sono stati a questo proposito considerati diversi eventi perinatali collegabili al rischio. Il cancro del testicolo, il criptorchidismo, l'ipospadia, la qualità scadente del liquido seminale, sembrano fattori interdipendenti. Nei maschi infertili l'insorgenza di un tumore del testicolo (seminoma, tumore delle cellule di Leydig o del Sertoli, teratoma maturo) è venti volte maggiore di quanto osservato nella popolazione generale (circa 1 su 200 maschi infertili con maggiore insorgenza tra i 20 e i 45 anni) [77]. La genesi del tumore viene perciò ricondotta a eventi prenatali o perinatali ancora sconosciuti. È stato però dimostrato che molti degli affetti hanno ridotta fertilità già prima dell'insorgenza della malattia, per fattori forse connessi a eventi prenatali predisponenti. Anche la maggiore insorgenza osservata nel criptorchidismo e nelle ipospadie non sembrerebbe casuale. L'osservazione di microliti all'ecografia richiede la biopsia testicolare per escludere la presenza di cellule tumorali *in situ*, specie se in casi di criptorchidismo e testicoli atrofici. Una microlitiasi testicolare in maschi subfertili può infatti precedere o essere associata al carcinoma *in situ* del testicolo [78].

6 Qualche riflessione sulla fecondazione assistita

Si ritiene che già oltre un milione di bambini siano nati nel mondo grazie alle tecniche di fecondazione assistita [79]. È un numero sufficiente per consentire analisi retrospettive sulle varie problematiche che queste tecniche tuttora pongono, non escluse alcune nel campo della genetica.

Si sa che le malattie genetiche, considerate nel loro insieme, hanno la caratteristica di ridurre la *fitness* delle persone affette. Per “*fitness*” si intende la capacità procreativa di un individuo o di una popolazione. Se poniamo come valore 1 la *fitness* dei componenti “normali” di una popolazione, la *fitness* di un soggetto azoospermico è nulla; le astenospermie riducono la *fitness* senza portarla però a zero. La *fitness* degli acondroplasici è pari a 0,80, cioè ridotta del 20%. In base a questa stima, con il susseguirsi delle generazioni, si sarebbe dovuto assistere a una progressiva riduzione del numero degli acondroplasici, displasia conosciuta da più di duemila anni. È stato invece dimostrato che le nascite si sono mantenute pressochè invariate nei secoli: in questo caso l'equilibrio nella popolazione viene spiegato con la nascita di nuovi affetti (con una frequenza media di 1 su 25 000 nati), per nuove mutazioni che avvengono nelle cellule germinali di genitori sani. Nel caso degli acondroplasici, la ridotta *fitness* non dipende però da una loro ridotta fertilità, che risulta del tutto normale, ma da comprensibili fattori ambientali e socio-culturali.

La riduzione della *fitness* può avere infatti sia cause intrinseche che estrinseche (talvolta sono però presenti entrambe). Le prime sono dovute a un'infertilità causata da disordini genetici (ad esempio, nei difetti della motilità ciliare). La *fitness* può essere però ridotta anche se la possibilità di procreazione è compromessa da cause anatomiche o funzionali (displasie del bacino femminile, neuropatie paralizzanti centrali o periferiche, apparenza dismorfica sgradevole, ecc.).

La riduzione della *fitness* deve essere considerata un fenomeno biologico naturale di difesa per la specie, in quanto tendente a diminuire, o comunque a non fare aumentare, nella popolazione il carico genetico di un dato disordine genetico.

I progressi biotecnologici associati alle conoscenze della biologia molecolare si sono rilevati capaci in misura sempre crescente di superare queste barriere naturali. Grazie a queste opportunità, se alla fecondazione assistita si rivolgono soggetti portatori di mutazioni geniche, vi è il rischio di trasmissione ai discendenti della stessa patologia parentale.

Ma è lecito invocare effetti disgenetici conseguenti al progresso scientifico? Concettualmente la risposta non può essere che affermativa. Un malato di morbo di Cooley non è oggi idoneo alla procreazione; è molto probabile però che in un futuro non lontano ciò sarà reso possibile: come conseguenza, i suoi concepiti sarebbero tutti eterozigoti talassemici. I malati di una malattia recessiva, essendo omozigoti, trasmettono obbligatoriamente uno dei due geni mutati della malattia a tutti i discendenti, sia con una fecondazione naturale che assistita. Il problema va minimizzato perché gli interventi volti a questo fine, complessivamente considerati, incidono in maniera del tutto insignificante sul pool genetico, cioè sugli equilibri naturali da sempre in atto, anche se si calcola, come detto, che più di un milione di bambini sono già nati nel mondo con le tecniche di fecondazione assistita.

Questa considerazione però non ci deve fare sottovalutare il fatto che oggi l'evoluzione culturale dell'uomo si scontra in tanti altri campi con quella biologica, con iniziative che eludono o ignorano il rispetto che si deve agli equilibri naturali, non soltanto biologici. Ne fanno testimonianza i disastri ambientali che mettono a rischio la stessa sopravvivenza della nostra specie sul pianeta.

“...e tu Homo ricorda essere cosa nefanda distruggere la composizione dell'opera mirabile della Natura...”. Auguriamoci che l'Homo moderno, “*sapiens sed insanus*”, sappia ancora fare tesoro del monito del grande Leonardo.

7 Consulenza genetica

Il consulto genetico dovrebbe rientrare tra le prestazioni mediche che precedono il concepimento, naturale o indotto con la fecondazione assistita. Il medico genetista ha il compito di valutare il rischio di occorrenza o di ricorrenza di una malattia genetica.

Con la consulenza genetica vengono fornite alla coppia informazioni inerenti l'eventuale malattia genetica, le modalità di trasmissione, il rischio di comparsa o di ricorrenza. Vengono altresì dati i necessari suggerimenti sulle possibili scelte riproduttive per le coppie a rischio genetico (adozione, contraccezione, fecondazione assistita, possibilità di una diagnosi prenatale, ecc.).

È chiaro come la consulenza in periodo preconcezionale sia più utile di quella offerta a concepimento avvenuto.

La richiesta più frequente di consulto genetico proviene da gravidanze già in atto (talvolta in fase inoltrata della gestazione). La malattia temuta può essere cromosomica (quasi sempre il timore è per la sindrome di Down). La patologia sospettata può essere ereditaria da mutazione genica: in questo caso si procede al prelievo di cellule (con la villocentesi o l'amniocentesi) per le analisi molecolari sul DNA estratto dalle cellule. Gli studi molecolari sono sempre mirati alla ricerca di una specifica mutazione, abitualmente già conosciuta.

La malattia sospettata può essere metabolica, per cui lo studio dei cromosomi non è di alcuna utilità; si deve, in questi casi, indirizzare lo studio verso specifiche deficienze enzimatiche e/o mutazioni geniche.

Non di rado è necessario preliminarmente eseguire specifiche analisi diagnostiche sui genitori o anche altri familiari (ad esempio, zii e nonni).

In tema di fecondazione assistita, la consulenza genetica è un atto medico assolutamente necessario, in quanto la sua omissione può fare incorrere il medico in colpa per negligenza nei casi in cui il concepito nasca con una malattia o una malformazione genetica che non era stata prevista, ma che avrebbe potuto esserlo con una consulenza del medico genetista. Molte volte questo rischio è ignorato dalla coppia, il che non giustifica il comportamento omissivo del medico. Se, ad esempio, un concepito nasce anoftalmico da

genitori apparentemente sani, ma che hanno un consanguineo affetto da questo grave difetto genetico, la consulenza genetica avrebbe consentito di valutare la probabilità di un rischio, in questo caso prevedibile, ma non previsto, calcolabile anche mille volte maggiore di quanto atteso sulla generalità dei nati.

Bibliografia

■ Capitolo 1

1. Alvarez Nieto C (2006) Infertility: the magnitude of this problem. *Rev Enferm* 29:56-62

■ Capitolo 2

2. Jobling MA, Lo IC, Turner DJ et al (2007) Structural variation on the short arm of the human Y chromosome: recurrent multigene deletions encompassing Amelogenin Y. *Hum Mol Genet* 16:307-316
3. Weber RF, Dohle GR, Romijn JC (2005) Clinical laboratory evaluation of male subfertility. *Adv Clin Chem* 40:317-364
4. Zini A, Libman J (2006) Sperm DNA damage: importance in the era of assisted reproduction. *Curr Opin Urol* 16:428-434
5. Francavilla S, Cordeschi G, Pelliccione F et al (2007) Isolated teratozoospermia: a cause of male sterility in the era of ICSI? *Front Biosci* 12:69-88
6. Dam Ah, Feenstra I, Westphal JR et al (2007) Globozoospermia revised. *Hum Reprod Update* 13:63-75
7. Mehdi M, Smatti B, Saad A et al (2006) Analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) of the relationship between gonosomic aneuploidy and the results of assisted reproduction in men with severe oligozoospermia. *Andrologia* 38:137-141

■ Capitolo 3

8. Egozcue J, Sarrate Z, Codina-Pascual M et al (2005) Meiotic abnormalities in infertile males. *Cytogenet Genome Res* 111:337-342
9. Duzcan F, Aybek Z, Tepeli E et al (2006) Sex chromosome aneuploidy rates in the somatic cells of infertile men. *J Reprod Med* 51:489-492
10. Damani MN, Mittal R, Oates RD (2001) Testicular tissue extraction in a young male with 47,XXY Klinefelter's syndrome: potential strategy for preservation of fertility. *Fertil Steril* 76:1054-1056

11. Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL et al (2006) Success of testicular sperm extraction [corrected] and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4027
12. Kyono K, Uto H, Nakajo Y et al (2007) Seven pregnancies and deliveries from non-mosaic Klinefelter syndrome patients using fresh and frozen testicular sperm. *J Assist Reprod Genet* 24:47-51
13. Okada H, Goda K, Muto S et al (2005) Four pregnancies in non-mosaic Klinefelter's syndrome using cryopreserved-thawed testicular spermatozoa. *Fertil Steril* 84:1508
14. Denschlag D, Tempfer C, Kunze M, Wolff G, Keck C (2004) Assisted reproductive techniques in patients with Klinefelter syndrome: a critical review. *Fertil Steril* 82:775-779
15. Komori S, Horiuchi I, Hamada Y et al (2004) Birth of healthy neonates after intracytoplasmic injection of ejaculated or testicular spermatozoa from men with non-mosaic Klinefelter's syndrome: a report of 2 cases. *J Reprod Med* 49:126-130
16. Zhou Q, Cui YX (2005) [Intracytoplasmic sperm injection for Klinefelter patients and the risk of chromosome anomaly in the patients' offspring]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 11:149-151
17. Okada H, Goda K, Yamamoto Y et al (2005) Age as a limiting factor for successful sperm retrieval in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril* 84:1662-1664
18. Gonsalves J, Turek PJ, Schlegel PN et al (2005) Recombination in men with Klinefelter syndrome. *Reproduction* 130:223-229
19. Damani MN, Mittal R, Oates RD (2001) Testicular tissue extraction in a young male with 47,XXY Klinefelter's syndrome: potential strategy for preservation of fertility. *Fertil Steril* 76:1054-1056
20. Dauwerse JG, Hansson KB, Brouwers AA et al (2006) An XX male with the sex-determining region Y gene inserted in the long arm of chromosome 16. *Fertil Steril* 86:463
21. Bouayed Abdelmoula N, Portnoi MF et al (2003) Skewed X-chromosome inactivation pattern in SRY positive XX maleness: a case report and review of literature. *Ann Genet* 46:11-18
22. Lin YH, Chuang L, Lin YM et al (2005) Isochromosome of Yp in a man with Sertoli-cell-only syndrome. *Fertil Steril* 83:764-766
23. Bruyère H, Speevak MD, Winsor EJ et al (2006) Isodicentric Yp: prenatal diagnosis and outcome in 12 cases. *Prenat Diagn* 26:324-329
24. Valetto A, Bertini V, Rapalini E et al (2004) Molecular and cytogenetic characterization of a structural rearrangement of Y chromosome in an azoospermic man. *Fertil Steril* 81:1388-1390
25. Abdelmoula NB, Amouri A (2005) [Dicentric Y chromosome]. *Ann Biol Clin (Paris)* 63:363-375
26. Lin YH, Lin YM, Lin YH et al (2004) Ring (Y) in two azoospermic men. *Ann J Med Genet A* 128:209-213
27. DesGroseilliers M, Fortin F, Lafrenière AM et al (2006) Dynamic increase of a 45,X cell line in a patient with multicentric ring Y chromosomes. *Cytogenet Genome Res* 115:90-93
28. Ventruato V, Sacco G, Leonardo F (2001) *Testo atlante di citogenetica umana. Una guida al riconoscimento e alla interpretazione delle anomalie cromosomiche in età prenatale e postnatale.* Springer-Verlag Italia, Milano
29. Anton E, Vidal F, Egozcue J, Blanco J (2006) Genetic reproductive risk in inversion carriers. *Fertil Steril* 85:661-666. Erratum in: *Fertil Steril* 86:498
30. Vialard F, Delanete A, Clement P et al (2007) Sperm chromosome analysis in two cases of paracentric inversion. *Fertil Steril* 87:418
31. Madon PF, Athalye AS, Parikh FR (2005) Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility. *Reprod Biomed Online* 11:726-732

32. Collode G, Moretti E, Capitani S et al (2006) TEM, FISH and molecular studies in infertile men with pericentric inversion of chromosome 9. *Andrologia* 38:122-127

■ Capitolo 4

33. Moro E, Ferlin A, Yen PH et al (2000) Male infertility caused by a de novo partial deletion of the DAZ cluster on the Y chromosome. *J Clin Endocrinol Metab* 85:4069-4073
34. Ferlin A, Bettella A, Tessari A et al (2004) Analysis of the DAZ gene family in cryptorchidism and idiopathic male infertility. *Fertil Steril* 81:1013-1018
35. Kahyaoglu S, Turgay I, Ertas E, Batioglu S (2006) Swyer syndrome with SRY + Y chromosome and rudimentary internal genitalia demonstrating temporary action of antimüllerian hormone in utero: a case report. *J Reprod Med* 51:510-512
36. Mikelsaar R, Pauklin M, Lissitsina J, Punab M (2006) Reciprocal translocation t(7;16)(q21.2;p13.3) in an infertile man. *Fertil Steril* 86:719
37. Umeno M, Shinka T, Sato Y et al (2006) A rapid and simple system of detecting deletions on the Y chromosome related with male infertility using multiplex PCR. *Med Invest* 53:147-152
38. Andersson AM, Petersen JH, Jørgensen N et al (2004) Serum inhibin B and follicle-stimulating hormone levels as tools in the evaluation of infertile men: significance of adequate reference values from proven fertile men. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2873-2879
39. Umeno M, Shinka T, Sato Y et al (2006) A rapid and simple system of detecting deletions on the Y chromosome related with male infertility using multiplex PCR. *J Med Invest* 53:147-152
40. Collodel G, Moretti E, Capitani S et al (2006) Ultrastructural sperm study in infertile males with microdeletions of Y chromosome. *J Submicrosc Cytol Pathol* 38:45-50
41. Ferlin A, Arredi B, Speltra E et al (2007) Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab* 92:762-770
42. McElreavey K, Ravel C, Chantot-Bastaraud S, Siffroi JP (2006) Y chromosome variants and male reproductive function. *Int J Androl* 29:298-303
43. Samli H, Murat Samli M, Solak M (2006) Natural transmission of AZFb Y-chromosomal microdeletion from father to his three sons. *Arch Androl* 52:423-426
44. Foresta C, Bettella A, Vinanzi C et al (2004) A novel circulating hormone of testis origin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5952-5958
45. Trussell JC, Lee PA (2004) The relationship of cryptorchidism to fertility. *Curr Urol Rep* 5:142-148
46. Song NH, Wu HF, Zhang W et al (2005) Screening for Y chromosome microdeletions in idiopathic and nonidiopathic infertile men with varicocele and cryptorchidism. *Clin Med J (Engl)* 118:1462-1467
47. Ferlin A, Bettella A, Tessari A et al (2004) Analysis of the DAZ gene family in cryptorchidism and idiopathic male infertility. *Fertil Steril* 81:1013-1018
48. Thorup J, Cortes D, Petersen BL (2006) The incidence of bilateral cryptorchidism is increased and the fertility potential is reduced in sons born to mothers who have smoked during pregnancy. *J Urol* 176:734-737
49. Averous M, Lopez C (2004) [Cryptorchidism: the point of view of a pediatric urologist]. *Gynecol Obstet Fertil* 32:813-817
50. Hutson JM, Clarke MC (2007) Current management of the undescended testicle. *Semin Pediatr Surg* 16:64-70
51. Longui CA (2005) [Cryptorchidism: diagnosis and treatment]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 49:165-171
52. Leung AK, Robson WL (2004) Current status of cryptorchidism. *Adv Pediatr* 51:351-377

53. Cortes D, Thorup J, Hogdall E et al (2007) The relation of germ cells per tubule in testes, serum inhibin B and FSH in cryptorchid boys. *Pediatr Surg Int* 23:163-169
54. Hadziselimovic F (2006) Early successful orchidopexy does not prevent from developing azoospermia. *Int Braz J Urol* 32:570-573
55. Vernaeve V, Krikilion A, Verheyen G et al (2004) Outcome of testicular sperm recovery and ICSI in patients with non-obstructive azoospermia with a history of orchidopexy. *Hum Reprod* 19:2307-2312
56. Kvist K, Thorup J, Byskov AG et al (2006) Cryopreservation of intact testicular tissue from boys with cryptorchidism. *Hum Reprod* 21:484-491
57. Saito S, Kumamoto Y (1989) The number of spermatogonia in various congenital testicular disorders. *J Urol* 141:1166-1168
58. Gat Y, Zukerman Z, Chakraborty J, Gornish M (2005) Varicocele, hypoxia and male infertility. Fluid Mechanics analysis of the impaired testicular venous drainage system. *Hum Reprod* 20:2614-2619
59. Sakamoto H, Saito K, Shichizyo T et al (2006) Color Doppler ultrasonography as a routine clinical examination in male infertility. *Int J Urol* 13:1073-1078
60. Handel LN, Shetty R, Sigman M (2006) The relationship between varicoceles and obesity. *J Urol* 176:2138-2140
61. Meacham RB, Townsend RR, Rademacher D, Drose JA (1994) The incidence of varicoceles in the general population when evaluated by physical examination, gray scale sonography and color Doppler sonography. *J Urology* 151:1535-1538
62. Pasqualotto FF, Lucon AM, de Góes PM et al (2005) Is it worthwhile to operate on subclinical right varicocele in patients with grade II-III varicocele in the left testicle? *J Assist Reprod Genet* 22:227-231
63. Paduch DA, Skoog SJ (2001) Current management of adolescent varicocele. *Rev Urol* 3:120-133
64. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SS (2006) Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 12:630-633
65. Smith R, Kaune H, Parodi D et al (2006) Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod* 21:986-993
66. Heaton JP (2006) Varicocelectomy, evidence-based medicine and fallibility. *Eur Urol* 49:217-219
67. Niederberg C (2005) Testicular growth, sperm concentration, percent motility, and pregnancy outcome after varicocelectomy based on testicular histology. *J Urol* 174:659-660
68. Ku JH, Kim SW, Park K, Paick JS (2005) Benefits of microsurgical repair of adolescent varicocele: comparison of semen parameters in fertile and infertile adults with varicocele. *Urology* 65:554-558
69. Libman J, Jarvi K, Lo K, Zini A (2006) Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy is superior for men with bilateral versus unilateral repair. *J Urol* 176:2602-2605
70. Aittomäki K, Lucena JL, Pakarinen P et al (1995) Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 82:959-968
71. Wood JR, Dumesic DA, Abbott DH, Strauss JF 3rd (2007) Molecular abnormalities in oocytes from women with polycystic ovary syndrome revealed by microarray analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 92:705-713
72. Pasquali R, Gambineri A (2006) Polycystic ovary syndrome: a multifaceted disease from adolescence to adult age. *Ann N Y Acad Sci* 1092:158-174
73. Dusková M, Hill M, Stráka L (2007) [The polycystic ovary syndrome and its male equivalent]. *Cas Lek Cesk* 146:251-255

■ Capitolo 5

74. de Kretser Dm, Huidobro C, Southwick GJ, Temple-Smith PD (1998) The role of the epididymis in human infertility. *J Reprod Fertil Suppl* 53:271-275
75. Bozhedomov VA, Teodorovich OV (2005) [Epidemiology and causes of autoimmune male infertility]. *Urologiia* 1:35-44
76. Kendirci M, Hellstrom WJ (2006) Antisperm antibodies and varicocele. *South Med J* 99:13-14
77. Haddad O, Leroy X, Lemaitre L et al (2005) [Infertility and testicular tumour based on a series of 25 patients]. *Prog Urol* 15:1096-1100
78. de Gouveia Brazao CA, Pierik Fh, Oosterhuis JW et al (2004) Bilateral testicular microlithiasis predicts the presence of the precursor of testicular germ cell tumors in subfertile men. *J Urol* 171:158-160

■ Capitolo 6

79. Woczynski S, Zbucka M, Lesniewska M (2005) [Health of children born after the infertility treatment with Assisted Reproduction Technology]. *Endokrynol Pol* 56:975-979

Indice analitico

A

5 alfa-reduttasi 39
Aborti precoci 25
Acrosoma 6
AKAP4 14
AMELY (AMELogenin Y) 6
Aneuploidie 25
Anomalie sinaptiche 25
Anorchia 45
Anticorpi antisperma 51
Anticorpi antispermatozoi (ASA) 14, 43
ASAB (*AntiSpermal AntiBodies*) 51
Aspermia 17
Astenozoospermia 17, 33
AZF (*Azoospermia Factor*) 36, 38
Azoospermia 17, 42

B

Biopsia testicolare 26

C

Cariotipo aneuploide 26
Concentrazione degli spermatozoi 13
Consulenza genetica 55
Crioconservazione 27
Criptorchidismo 1, 40, 42, 51, 52
Cromosoma 9 33
Cromosoma Y ad anello 29
Cromosoma Y dicentrico 28
Cromosomopatie 25

D

DAM 46
DAX 46
DAZ (*Deleted in AZoospermia*) 36
DAZLA (*autosomal homologue of DAZ, deleted in azoospermia homolog*) 36
Deferento-vescicolografia 50
Degenerazione tumorale 41
Dicentrico 28
Disgenedie gonadiche 45
Disgenesia testicolare 40
DNA satellite 25

E

Eterocromatina costitutiva 33
Evoluzione 35

F

Feminilizzazione testicolare 45
Fitness 53
Flagello 6
FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) 14
Fruttosio 13
FSH (*Follicle-Stimulating-Hormone*) 5
FSHR (*Follicle-Stimulating Hormone Receptor*) 47

G

Globozoospermia 20
GnRH (*Gonadotropin-Releasing-Hormone*) 5

Gonadotropine 47
Gubernaculum testis 44

H

HCG (Human Choronic Gonadotropin) 6

K

Klinefelter 30

I

ICSI (*Intra Cytoplasmatic Injection of Spermatozoa*) 22, 38
Infertile 2
Infertilità 1
Infertilità autoimmuni 50
Infertilità di coppia 2
Infertilità escretorie 3, 49
Infertilità fisiologica 3
Infertilità idiomatiche 3
Infertilità ostruttive 49
INSL3 (*Insulin-like factor 3*) 41
Inversioni paracentriche 33
Inversioni pericentriche 33
Iperandrogenismo 47
Iperprolattinemia 39, 40
Ipoandrogenismo 3
Ipoandrogenismo ipergonadotropo 47
Ipoandrogenismo ipogonadotropo 47
Ipospadias 41, 44, 52
Isocromosoma 28
Isodentriche 29

L

LH (*Luteinizing-Hormone*) 5

M

Malattia di Martin Bell 27
Malattie dell'epididimo 50
Malattie mendeliane 35
Maschio XYY 28
MESA 49
Micropene 41
MIF (*Mullerian Inhibiting Factor*) 5
MAR (*Mixend antiglobulin reaction*) 14
Morbo di Cooley 54
Mosaicismo germinale 27

Motilità progressiva 13
Mutazioni 35

N

Necrozoospermia epididimale 20

O

ODG (*Ovarian Disease of Gonadotropin*) 47
Oligoastenoteratozoospermia 20
Oligoastenzospermia 20
Oligospermia 17
Oligozoospermia 25
Orchiometro 27
Orchiopessia 41, 42

P

Penta X 31
Persistenza dei dotti di Muller (MIF) 45
PESA 49
Pesticidi 51
pH 13
PMR2 37
Polimorfismi 29
Polimorfismo 33
PCT (*Post-Coital-Test*) 20
PRM1 37
Pseudocriptorchidismo 42
Pseudoermafroditismo 45, 47
Pseudopubertà precoce 47
Pubertà precoce 46
Pubertà ritardata 46

R

Radiazioni ionizzanti 51
RBM1 (*RNA-Binding Motif protein 1*) 36
Ridotta progressione 20
ROS (*Reactive Oxygen Species*) 43

S

Scala MacLeod 20
Seminoma 52
Sex reversal 28, 45, 46
Sex-limited 44
SF1 (*Steroidogenic Factor 1*) 37
Sindrome di Del Castello (*Sertoli Cell-Only Syndrome*) 39

Sindrome di Kallmann 3
Sindrome di Klinefelter 26, 27
Sindrome di Turner 30
SOX9 37, 45
Spermatici 50
SRY (*Sex-determining Region Y*) 5, 28, 36, 46
Sterilità 2
Sterilità di coppia 2
Steroidogenesi 39
Streak gonads 30
Swelling test 20

T

Teratoma 52
Teratozoospermia 17
Testicolo retrattile 42
Testosterone 44
Tetra X 31
Torsione funicolare 44
Traslocazioni 31
Traslocazioni reciproche 31
Traslocazioni robertsoniane 31
Traslocazioni Y/autonoma 29
Triplo X 30
Tubulina 20

Turner-simili (*Turner-like*) 29, 30

V

Vanishing testis 45
Varicocele 1
Varicocele 42-44, 51
Varicocelectomia 44, 51
Vasectomia 49
Vitalità 13
Volume del liquido spermatico 13

W

WT1 (*Wilms Tumor1*) 37

X

X-linked 45

Y

Y-linked 44

Z

ZFY 36

Contenuto del CD

Nel CD-Rom che accompagna il volume sono riportati i disordini genetici dell'infertilità maschile, estrapolati dalle oltre 6.000 malattie genetiche contenute nel database GENUS* e raggruppati nei 23 *short report*, che seguono.

- *amenorrhea, primary*
- *amenorrhea, secondary*
- *azoospermia, non obstructive*
- *azoospermia, asthenozoospermia, teratozoospermia*
- *azoospermia, oligozoospermia-gene analysis*
- *azoospermia, including oligozoospermia: prenatal diagnosis, echographic*
- *cryptorchidism*
- *cryptorchidism-mental retardation syndromes*
- *genital disorders*
- *gynecomasty*
- *hypergonadotropic hypogonadism*
- *hypergonadotropic hypogonadism-mental retardation*
- *hypogonitalism, hypogonadism; small testes, hypoplastic scrotum*
- *hypogonadotropic hypogonadism*
- *hypogonadotropic hypogonadism-mental retardation*
- *hypospadias*
- *infertility, sterility*
- *infertility, sterility - gene analysis*
- *infertility, sterility - mental retardation syndromes*
- *infertility, sterility - prenatal diagnosis, echographic*
- *pseudohermaphroditisms, male*
- *pseudohermaphroditism, female*
- *puberty, precocious, sexual precocity*
- *sex reversal*

All'interno del *report genital disorders* sono state inoltre riportate circa 900 sindromi genetiche in cui sono presenti patologie dell'apparato riproduttivo, sia maschile che femminile.

* Il database GENUS (www.genusonline.org) è curato dal Prof. Valerio Ventruto e dal Dr. Andrea Di Luccio

Di ogni malattia sono presenti i seguenti dati:

- nome della malattia
- eponimi e/o gli acronimi
- modalità di trasmissione ereditaria
- sintesi semeiologica
- bibliografia.

Tutte le malattie a eziologia mendeliana semplice trovano nella bibliografia il richiamo a OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*, indicato con numeri a sei cifre). È possibile inoltre l'aggiornamento in tempo reale, attraverso il collegamento diretto in rete sia con OMIM sia con GENUS.

Nelle pagine successive sono riprodotte a titolo esemplificativo due schermate del contenuto del CD-Rom.

La genetica nell'infertilità maschile

SHORT REPORTS

- Hypergonadotropic hypogonadism. N.42 disorders
- Hypogonadism; small testes, hypoplastic scrotum. N.43 disorders
- Hypergonadotropic hypogonadism-mental retardation. N.15 disorders
- Hypogonadotropic hypogonadism. N.36 disorders
- Hypospadias. N.162 disorders
- Infertility, sterility gene analysis. N.65 disorders
- Infertility, sterility prenatal diagnosis, echographic. N.34 disorders
- Infertility, sterility-mental retardation. N.65 disorders
- Infertility, sterility. N.105 disorders
- Pseudohermaphroditism, female. N.19 disorders
- Pseudohermaphroditism, male. N.54 disorders
- Puberty, precocious, sexual precocity. N.27 disorders
- Sex reversal. N.27 disorders

Sex reversal. N.27 disorders

Code	Disorder name	Inheritance	Semiological synthesis	Bibliography
511	Adachi syndrome Eponyms - androgen insensitivity due to coactivator deficiency	- autosomal recessive	Genital disorder; isolated defect. Sex reversal syndrome, inguinal herniae, containing testes; in infant female 46,XY; absent rudimentary uterus, blind vagina, breast development female fat deposition, occurring before pubarche; no menses, absent scanty pubic and axillary hair, peculiar laboratory data, breast cancer susceptibility. No mutations in the androgen receptor gene. A coactivator interacting with the AF-1 region of the androgen receptor may be lacking.	OMIM: 261110 X; Exp. J. J. <i>Am. J. Hum. Genet.</i> 48:2:1991:432-2000 OMIM: 130724
700	adrenal hyperplasia I Eponyms - 20-32 Arachidonic acid deficiency - cholesterol distalase - deficiency - CYP11A - lipid adrenal hyperplasia - P450 a-oh-chain cleavage - steroid deficiency - P450C11 - P450SCC - pseudohermaphroditism male due to lipid hyperplasia of adrenal cortex	- autosomal recessive	Endo-ermo-genito-metabolic disorder. Hypospadias, external genitalia failure, undergo masculine development, error in adrenal metabolism.	OMIM: 261110 OMIM: 608318 OMIM: 608318 Exp. <i>J. Hum. Genet.</i> 45:5
574	Bisson-Lavigne-Schoenle Zellweger Eponyms - adrenocortical insufficiency without ovarian failure		Severe muscular hypotonia, adrenocortical insufficiency, with normal chromosomal pattern, normal LH and FSH serum levels, and normal ovaries.	OMIM: 261110 Am. J. Hum. Genet. 67:1549-1558,2000
820	Breinan syndrome Eponyms - gonadal dysgenesis, XY- associated anomalies	- reciprocal autosomal recessive	Cardio-facio-genito-skeletal disorder. Short stature, cardio-renal musculo-skeletal anomalies, peculiar facies, cleft lip palate, acromelia, broad hands feet, hypromuscular appearance, streak gonads.	OMIM: 261110
2424	campomelic dysplasia, dominant DFP Eponyms	autosomal recessive - autosomal recessive - partial masculin	Complex malformations: Short-limb dwarfism, bowing bones, particularly femur and tibia, dysmorphic face, lung hypoplasia, sex reversal, ambiguous genitalia, XY, other defects.	OMIM: 114290 Exp. <i>J. Hum. Genet.</i> 45:5 J. Pediatr. 106:671-676, 1984, pag. 102 * Visigian R.P., Kozak J., Chishti H.

A pag. 70 è visibile la schermata che appare cliccando "Adachi syndrome"

511 **Adachi syndrome**

Eponyms:	— androgen insensitivity due to coactivator deficiency
Inheritance:	X-linked recessive
Semeiological Synthesis:	Genital disorder, isolated defect. Sex reversal syndrome, inguinal herniae, containing testes, in infant female 46,XY; absent/rudimentary uterus, blind vagina, breast development/female fat deposition, occurring before pubarche; no menses, absent/scanty pubic and axillary hair, peculiar laboratory data; breast cancer susceptibility. No mutations in the androgen receptor gene. A coactivator interacting with the AF-1 region of the androgen receptor may be lacking.
Group	GENITAL DISORDERS
Sub group	<i>breast, changes</i>
Signs:	<ul style="list-style-type: none"> – gynecomasty <i>genital dysfunctions</i> – amenorrhea, primary <i>male xx-female xy</i> – sex reversal
	PRENATAL-NEONATAL MODIFIED DATA
	<i>prenatal diagnosis</i>
	<ul style="list-style-type: none"> – prenatal diagnosis, cytogenetic – prenatal diagnosis, molecular
Super group:	
Super aggreg.	FOETAL CHANGES
Aggregations:	foetal changes, recognized by laboratory data
	OTHER
	isolated genital disorders
Differential diagnosis:	511 Adachi syndrome 25150 testicular feminization, complete
Bibliography	N. Engl . J. Med. 343(12),881-882,2000 OMIM ID: 300274