
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 testosteroneica. 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 gabella 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).

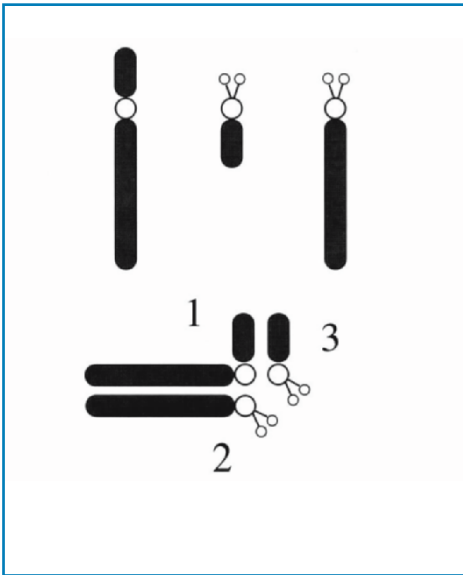


Fig. 23 Figura schematica di una traslocazione robertsoniana (*a sinistra*) tra un cromosoma del gruppo D e uno del gruppo G. In basso: un modello trivalente di riarrangiamento meiotico. Da [28], con autorizzazione

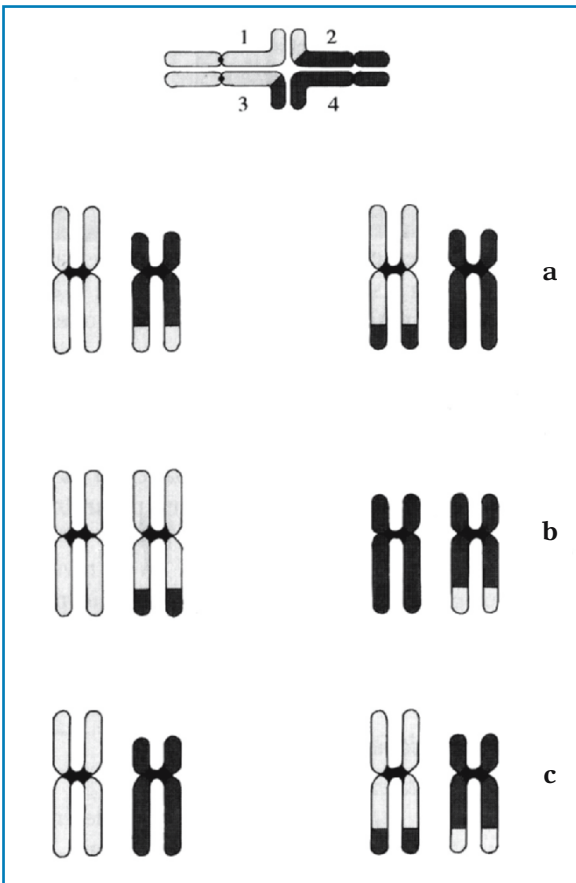


Fig. 24a-c Figura schematica di traslocazioni reciproche e (*in alto*) modello di riarrangiamento meiotico tetraivalente. Segregazioni vantaggiose sono le alterne (1-4 e 2-3) sono svantaggiose le segregazioni adiacente 1 (1-3 e 2-4) e adiacente 2 (1-2 e 3-4). Da [28], con autorizzazione

■ 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.