
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 spermatozoi, 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 spermatozoni 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 spermatozoni 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 patognomoniche. 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 ipogenitalismi 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].