

## Fattori di rischio genetici di infertilità maschile

### Epidemiologia

Le alterazioni genetiche rappresentano un rilevante fattore di rischio per l'infertilità maschile. In circa il 15% dei soggetti maschi infertili è possibile individuare un'anomalia genetica responsabile della compromissione della funzione riproduttiva. Tale valore è una sottostima della reale quota di pazienti infertili per causa genetica se si considera, come oramai è accordo, che vi siano fattori genetici ad oggi non noti anche alla base della maggior parte dei casi di infertilità idiopatica. Si stima una tendenza all'aumento della prevalenza dell'infertilità maschile genetica nelle future generazioni, considerato che il soggetto infertile da causa genetica, superando il proprio limite alla procreazione fisiologica grazie alla fecondazione assistita, rischia di trasmettere determinate anomalie genetiche alla prole.

### Eziologia

Esistono molteplici condizioni genetiche motivo di infertilità nel sesso maschile, che spaziano dai più frequenti quadri clinici di infertilità isolata ai più rari quadri sindromici complessi nei quali sussistono segni e sintomi ulteriori rispetto alle problematiche riproduttive.

Le basi genetiche dell'infertilità maschile sono eterogenee e vedono coinvolti interi cromosomi (alterazioni di numero o di struttura dei cromosomi) o parte di essi (disturbi genomici da microdelezione), singoli geni (malattie mendeliane da mutazioni puntiformi), il DNA mitocondriale (mtDNA), il concomitare di molteplici mutazioni genetiche di predisposizione nelle infertilità da meccanismo genetico multifattoriale.

La differente eziologia molecolare di ciascuna infertilità genetica condiziona un diverso rischio riproduttivo per il soggetto che superi - mediante il ricorso alla fecondazione assistita - il proprio limite alla procreazione.

Le anomalie genetiche suddette sono da intendersi come *costituzionali*, vale a dire presenti nel genoma di ciascuna cellula dei diversi tessuti del soggetto affetto, incluso il DNA degli spermatozoi. Ciò comporta che siano difetti trasmissibili alla prole (con modalità dipendenti dal tipo di ereditarietà del singolo difetto) e che siano facilmente indagabili dal DNA dei linfociti del sangue periferico.

La maggior parte dei casi è secondaria ad alterazioni a carico dei cromosomi sessuali (generalmente variazioni di numero, ovvero le aneuploidie dei cromosomi X ed Y) o degli autosomi (in genere alterazioni della struttura dei cromosomi dall'1 al 22), seguono le microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y e in ultimo le alterazioni a singolo gene, tra le quali sono più comuni le mutazioni del gene *CFTR*. Le altre anomalie genetiche motivo di infertilità maschile sono sicuramente più rare, consistono per lo più in mutazioni puntiformi di geni specifici, presentano trasmissione mendeliana e quadri clinici più complessi rispetto alle infertilità isolate.

Le aneuploidie cromosomiche possono essere individuate anche nelle cellule germinali di soggetti infertili non per causa genetica, in tal caso l'alterazione riguarda esclusivamente il DNA degli spermatozoi e non è costituzionalmente presente in tutti gli altri tessuti del soggetto. Alla pari, sono confinate esclusivamente alle cellule germinali le anomalie della metilazione associate ad infertilità (come la metilazione aberrante del gene *H19*).

**Tabella 1.** Cause genetiche più frequenti di infertilità maschile

---

#### **Alterazioni cromosomiche (omogenee o in mosaico)**

##### *Cromosomi sessuali*

47,XXY (sindrome di Klinefelter)

47,XYY e altre aneuploidie YY

Maschi 46,XX e 45,X

Alterazioni strutturali del cromosoma Y

Delezioni

Y ring

Isocromosomi  
Inversioni  
Traslocazioni

*Autosomi*

Traslocazioni (Robertsoniane, reciproche)  
Inversioni  
Altre alterazioni strutturali  
Sindromi cliniche  
Trisomia 21  
Duplicazioni e delezioni parziali

**Mutazioni geniche**

*Y-linked*

Microdelezioni Yq

*X-linked*

Sindrome di Kallmann  
Sindrome da insensibilità agli androgeni (gene AR)

*Autosomi*

Cause genetiche rare di infertilità maschile: v. tab.2  
Sindromi genetiche complesse in cui l'infertilità è una manifestazione minore: v. tab.2  
Condizioni genetiche in cui l'infertilità è la manifestazione principale:  
CFTR  
Geni per FSH-beta, LH-beta, FSHR, LHR

---

**Tabella 2.** Esempi di cause genetiche rare di infertilità maschile o sindromi in cui l'infertilità è una manifestazione minore

---

Distrofia miotonica  
Rene policistico autosomico dominante (gene PKD1)  
Anemia di Fanconi  
Beta talassemia  
Anemia Falciforme  
Deficit enzimatici (es. 21 idrossilasi, aromatasi, 5 alfa reduttasi, etc.)  
Difetti genetici della biosintesi, del metabolismo e dell'azione degli steroidi  
Ipogonadismi genetici, difetti ipofisari e delle gonadotropine  
Atassia cerebellare con ipogonadismo ipogonadotropo  
Mutazioni dei geni DNAI1, DNAH5, DNAH11 (Sindrome di Kartagener o discinesia ciliare primitiva o astenozoospermia)  
Malattie da accumulo (es. Emocromatosi, etc.)  
Mutazioni gene CATSPER1 (11q13.1)  
Sindrome genetiche da ipoacusia-infertilità, es.:

- Delezione 15q15.3 (sindrome da geni contigui STRC e CATSPER2)
- Sindrome di Usher

Sindromi genetiche associate a determinazione e sviluppo del sesso:

- NR5A1/SF1 (disgenesia gonadica parziale 46, XY "pseudoermafroditismo")
- SOX9, SRY, NROB1/DAX1 (disgenesia gonadica parziale 46, XY "reversione sessuale")
- WT1 (sindrome di Denys-Drash)
- SRD5A, SRD5A2 (ipospadia pseudo vaginale perineo scrotale)
- AMH, AMHR (sindrome da persistenza dei dotti mulleriani)
- STAR, CYP21, TDD, CYP17 (biosintesi degli steroidi)

Sindromi genetiche polimalformative senza disabilità intellettiva, es.:

- Sindrome di Noonan (gene PTPN11)
- Sindrome di Prune-Belly (gene CHRM3)
- Sindrome di Beckwith-Wiedemann (11p15.5)

Sindromi genetiche polimalformative con disabilità intellettiva, es.:

- Sindrome di Bardet-Biedl (gene BBS1)
- Sindrome di Prader-Willi (15q11.2)

---

## Alterazioni cromosomiche

Le anomalie cromosomiche nella popolazione dei maschi infertili hanno una prevalenza che varia tra il 2 e l'8%, significativamente superiore alla prevalenza delle anomalie cromosomiche alla nascita nella popolazione generale, stimata tra lo 0.5 e lo 0.7% (circa 1:150 individui). Nelle coppie che si sottopongono a PMA le anomalie cromosomiche sono più frequentemente riscontrate nel partner maschile (2% delle ICSI). Nella sottopopolazione dei maschi azoospermici la prevalenza di anomalie cromosomiche raggiunge il 15%, l'aneuploidia 47, XXY (Sindrome di Klinefelter) è quella maggiormente rappresentata (circa il 10% dei maschi con azoospermia non ostruttiva) ed in generale sono più frequenti le anomalie di tipo numerico a carico dei cromosomi sessuali. Anche l'aneuploidia XYY può condizionare un certo grado di compromissione della fertilità, difficile da quantificare. Si noti che, a differenza delle trisomie autosomiche T13, T18, T21 più frequentemente ereditate per via materna e legate all'età materna, le trisomie dei cromosomi sessuali 47,XXY e 47,XYY e le alterazioni strutturali sono ereditate soprattutto per via paterna.

Nei maschi infertili si possono riscontrare anche diverse anomalie strutturali degli autosomi, che includono le traslocazioni Robertsoniane e traslocazioni reciproche, inversioni, duplicazioni e delezioni cromosomiche.

Anche i soggetti infertili apparentemente normozoospermici possono presentare alterazioni cromosomiche, con un'incidenza variabile tra l'1 e il 3%, prevalentemente aneuploidie dei cromosomi sessuali (per esempio 47,XXY e mosaicismi) e anomalie strutturali bilanciate.

Le anomalie cromosomiche strutturali, oltre ad essere un'importante causa di infertilità maschile, poiché le rotture cromosomiche possono localizzarsi in corrispondenza di geni per la spermatogenesi o possono determinare un "effetto posizione" su geni funzionalmente importanti per la spermatogenesi, aumentano il rischio di esiti avversi della gravidanza, rappresentando la più comune causa genetica di aborti spontanei ripetuti e aumentando il rischio di nati morti e di trasmissione di anomalie cromosomiche alla prole, a causa della produzione di un numero più alto di spermatozoi con corredo genetico sbilanciato.

Gli studi più recenti in tema di rapporti tra citogenetica e infertilità maschile hanno permesso di chiarire alcuni concetti e di rivedere certi luoghi comuni, tra i quali è opportuno sottolineare:

- L'aneuploidia 47,XXY, sindrome di Klinefelter, non si associa obbligatoriamente a sterilità. Circa il 10% di questi soggetti presenta spermatozoi nell'eiaculato e nel 30-50% dei casi sono presenti focolai di spermatogenesi intratesticolare. Tali percentuali sono maggiori nelle forme in mosaicismo. In questi casi possono essere prodotti gameti normali, ma esiste un rischio significativamente aumentato di formare gameti aneuploidi. Questo aumento del rischio deve essere chiarito prima che il paziente sia avviato ad un programma ICSI.
- Gli ESAC *Extra Satellite marker Chromosomes* possono comportare una ridotta fertilità, non sempre quantificabile preventivamente.
- Solo alcune traslocazioni cromosomiche causano infertilità. In generale gli eterozigoti per queste anomalie producono una percentuale di gameti a corredo sbilanciato superiore a quello dei maschi a cariotipo normale. In alcuni casi i gameti sbilanciati sono sottoposti a selezione pre-zigotica nel concepimento naturale, meccanismo che può venir meno con le tecniche di fecondazione assistita.
- Il riscontro di mosaicismo per un'anomalia cromosomica non consente di stabilire univoche correlazioni genotipo-fenotipo.
- I rapporti tra alcuni eteromorfismi (variazioni nelle dimensioni e nella posizione delle regioni eterocromatiniche pericentromeriche, variazioni nelle dimensioni della regione eterocromatinica del braccio lungo del cromosoma Y, variazioni nella regione dei satelliti, etc.) e l'infertilità hanno solo un fondamento aneddotico e, di fatto, queste alterazioni non costituiscono di regola un meccanismo di infertilità.

## Microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y

La più frequente causa genetica di infertilità maschile grave è rappresentata dalle microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y, la cui prevalenza nei soggetti infertili è stimata attorno al 10%. Le delezioni *de novo* Yq sono una delle più frequenti anomalie cromosomiche nell'uomo, si stabiliscono a

causa di eventi di ricombinazione intracromosomica tra lunghi tratti di sequenze altamente ripetute di DNA nel corso della meiosi o nelle fasi precoci di sviluppo prima dell'impianto. Le microdelezioni Yq sono alterazioni destinate a trasmettersi ai maschi delle future generazioni, considerato che ogni figlio maschio generato grazie all'ausilio della fecondazione assistita erediterà dal padre il cromosoma Y alterato.

Nella regione Yq si riconoscono tre loci, noti come "azoospermia factors" AZF a, b e c, all'interno dei quali mappano diversi geni. Le delezioni coinvolgono più frequentemente la regione AZF c (circa il 70% dei casi), seguono la AZF b (circa il 15%) e la AZF a (circa il 5%). Il corrispettivo clinico delle microdelezioni Yq è rappresentato da una grave testicolopatia che si esprime con azoospermia non ostruttiva o con quadri di grave oligozoospermia (<5 milioni di spermatozoi/ml). Molto raramente si riscontrano microdelezioni nei soggetti con numero di spermatozoi > 5 mil sperm/ml, e non sono mai state individuate in soggetti normozoospermici.

Le delezioni complete AZFa, AZFb, AZFbc o AZFabc sono generalmente incompatibili con la produzione spermatica. In particolare, le delezioni dell'intera regione AZFa comportano invariabilmente la sindrome delle sole cellule del Sertoli (SCOS), con diagnosi di azoospermia e virtuale impossibilità al recupero di spermatozoi per eseguire ICSI. Alle delezioni complete AZFb e AZFbc corrisponde un aspetto istologico di SCOS o di arresto spermatogenetico, in pochissimi casi è stata riscontrata cripto/oligozoospermia. La spiegazione biologica del fenotipo inusuale resta non chiara, potrebbero incidere sia il diverso *background* genetico, che fattori ambientali, che differenze nell'esatta estensione delle delezioni. Delezioni più piccole possono ad esempio permettere la conservazione di geni siti in AZFb, (come *XKRY*, *CDY2* e *HSFY*). È stato proposto perciò che il fenotipo sia più grave in caso di completa rimozione della regione AZFb e che, salvo rarissime eccezioni riportate in letteratura, la diagnosi di delezione completa di AZFb e AZFbc implichi impossibilità al recupero di spermatozoi testicolari anche con micro-TESE. Le delezioni della regione AZFc, contenente il gene *DAZ*, si associano invece a fenotipo clinico e istologico variabile e sono in generale compatibili con un certo grado di spermatogenesi residua; sono state individuate anche in uomini con oligozoospermia grave e, in rari casi, sono state trasmesse alla prole con fecondazione spontanea. C'è un 50% di possibilità per i soggetti con delezione AZFc di recuperare spermatozoi mediante TESE e possono concepire con ICSI.

In caso di trasmissione della microdelezione Yq alla prole, non essendoci dunque una stretta correlazione genotipo-fenotipo, non è possibile esprimersi circa il fenotipo riproduttivo da attendersi nel figlio (se azoospermia o se oligozoospermia grave). È pertanto consigliato eseguire uno spermioγραμμα al figlio in età precoce (16-18 anni) per poter procedere con eventuale terapia medica o crioconservazione degli spermatozoi, informando della possibilità che la microdelezione eserciti un danno alla spermatogenesi progressivo nel tempo.

Nei pazienti con microdelezioni Yq viene segnalata un'aumentata incidenza di aneuploidie spermatiche, con incremento teoricamente del rischio abortivo e maggior probabilità di generare prole 45,XO (Sindrome di Turner) e 47,XXY (Sindrome di Klinefelter).

L'analisi molecolare delle microdelezioni dell'Yq dovrebbe far parte dell'iter diagnostico dei pazienti con azoospermia non ostruttiva e dei pazienti con grave oligozoospermia (concentrazione spermatica <5-10 mil/ml). È consigliabile ad ogni modo eseguirla quando questi pazienti si sottopongono ad ICSI, come suggerito dalle linee guida internazionali e dalle linee guida 2008 della legge 40. Non c'è al contrario indicazione al test in soggetti con più di 5-10 milioni di spermatozoi/ml. In assenza di una corretta selezione clinica dei pazienti da sottoporre al test, la *detection rate* della ricerca di microdelezione Yq si riduce dal 10% all'1-2% circa.

### **Mutazioni monogeniche: gene *CFTR***

L'agenesia bilaterale dei vasi deferenti (CBAVD) è una condizione che comporta infertilità per ostruzione meccanica delle vie seminali riconosce una natura genetica nell'alterazione del gene *CFTR* nel 70-80% dei casi. Il gene coinvolto è il medesimo gene responsabile della fibrosi cistica (FC) e il quadro clinico di CBAVD in questi pazienti rappresenta una forma lieve o incompleta di mucoviscidosi.

L'analisi molecolare di I livello del gene CFTR consiste in un pannello di ricerca di un numero variabile di mutazioni note. Nei soggetti con azoospermia ostruttiva da CBAVD questo test identifica nel 30-40% dei casi la presenza di una mutazione (soggetto eterozigote portatore di fibrosi cistica); in un ulteriore 30-40% dei pazienti vengono individuate due mutazioni diverse, una mutazione FC classica ed una mutazione "mild" (soggetto eterozigote composto); nel 20-30% dei casi è presente il solo "allele 5T". Il polimorfismo 5T dell'introne 8 è una variazione del gene CFTR specificatamente associata a quadri di CBAVD (l'allele normale in questa posizione ha un numero di ripetizioni nucleotidiche pari a 7T o 9T), che causa la mancata trascrizione dell'esone 9 e bassi livelli di espressione della proteina CFTR. L'allele 5T non è da considerarsi variante patogenetica per fibrosi cistica, ma può esserlo per CBAVD in omozigosi o in eterozigosi composta con una variante patogenetica o anche con una variante ad incerto significato.

Poiché l'analisi molecolare del gene CFTR nei maschi infertili viene eseguita a scopo diagnostico - e non quale test di screening per malattia fibrocistica - è raccomandabile includere nell'indagine di I livello la ricerca del suddetto polimorfismo dell'introne 8. Quando lo studio del gene individui una variante patogenetica, i pazienti CBAVD sono da considerarsi comunque come eterozigoti composti / omozigoti affetti ed è opportuno procedere con la ricerca della seconda mutazione mediante analisi di II livello del gene CFTR (sequenziamento estensivo del gene). Le mutazioni del gene CFTR possono associarsi altresì ad agenesia monolaterale dei dotti deferenti (CUAVD) con oligozoospermia o normozoospermia.

Inoltre, nei maschi infertili che non presentino CUAVD/CBAVD si osserva una prevalenza delle mutazioni CFTR del 6%, leggermente più elevata rispetto al 4% di prevalenza nella popolazione generale.

Le mutazioni del gene CFTR non compromettono la normale spermatogenesi, pertanto i soggetti con mutazioni possono fare ricorso alla ICSI impiegando i propri spermatozoi testicolari o epididimali. In tal caso va tenuta presente l'importanza della consulenza genetica relativa alle eventuali manifestazioni cliniche collegate alla trasmissione alla prole maschile della mutazione CFTR paterna e ai rischi riproduttivi della coppia a seconda del genotipo della partner.

Nel caso di partner portatrice di mutazione CFTR (nella popolazione caucasica gli eterozigoti portatori asintomatici sono 1:25) sussiste il rischio del 25% per ogni gravidanza di concepire prole omozigote mutata. Esistono più di 1500 diverse mutazioni a carico di questo gene e il quadro clinico è correlato al tipo di mutazione e alla quantità di proteina che viene prodotta; con buona approssimazione è possibile definire correlazioni genotipo-fenotipo, quanto meno per le mutazioni più comuni. I fenotipi possono variare da quello normale, all'azoospermia ostruttiva, alle bronchiectasie disseminate, all'aspergillosi polmonare, alla pancreatite cronica, alla poliposi nasale, alle rino-sinusiti croniche, alla fibrosi cistica conclamata, con o senza insufficienza pancreatica, ad esordio tardivo o congenita.

### **Mutazioni monogeniche: gene AR**

Circa il 2-3% dei soggetti con azoospermia e oligozoospermia grave non ostruttiva possono presentare una mutazione nel gene AR, codificante il recettore degli androgeni. La funzionalità di AR è un requisito essenziale per l'espressione del fenotipo maschile e per una normale spermatogenesi. Sono note centinaia di diverse mutazioni, per molte delle quali non è facile stabilire una correlazione genotipo-fenotipo. Le mutazioni di AR possono causare diversi gradi di insensibilità dei tessuti agli androgeni: mutazioni che inattivano completamente il gene provocano forme di insensibilità completa in soggetti con fenotipo femminile e cariotipo 46, XY (Sindrome di Morris); mutazioni che non compromettono totalmente la funzione di AR possono dare forme parziali di insensibilità con ipospadia, micropene, criptorchidismo, o forme lievi di fenotipo maschile con infertilità, eventualmente associato a segni di ipoandrogenismo quali ginecomastia o ridotta virilizzazione. Dal punto di vista clinico, un segno laboratoristico suggestivo di insensibilità agli androgeni, è rappresentato dall'elevato valore del prodotto LH x Testosterone (indice di sensibilità agli androgeni).

Per determinare l'espressione del normale fenotipo maschile, l'azione degli androgeni è mediata dal recettore AR che, in seguito al legame con il rispettivo ligando, trasloca fino al nucleo della cellula dove regola l'espressione dei geni responsabili agli androgeni. La cascata di segnali che da esso si innesca nel testicolo è essenziale per la spermatogenesi, il recettore non è espresso nelle linee cellulari germinali in via di sviluppo e si ritiene che eserciti i suoi effetti attraverso le cellule del Sertoli e le cellule mioidi peritubulari. Alcuni studi indicano che le sostituzioni aminoacidiche missenso nel dominio di legame del

recettore AR con il ligando inducano infertilità maschile attraverso un meccanismo nuovo che vede coinvolta una difettosa interazione tra le proteine del dominio recettoriale e le proteine di coattivazione.

Nei soggetti che riescano a concepire, la mutazione paterna non verrà data in eredità alla prole maschile, essendo il gene *AR* localizzato sul cromosoma X, mentre sarà necessariamente trasmessa alla prole femminile (che non avrà manifestazioni cliniche ma potrà a sua volta trasmettere il fenotipo infertile ad eventuali figli maschi).

### **Mutazioni monogeniche: geni associati al criptorchidismo**

È noto un gruppo di geni associati allo sviluppo di criptorchidismo, non necessariamente all'infertilità. Tra questi i più importanti sono il gene *INSL3* (19p13.11), che codifica per l'ormone *Insulin-like 3*, ed il gene codificante per il suo recettore *RXFP2* (13q13.1), *Relaxin family peptide 2*, la cui normale funzionalità consente la corretta fase trans-addominale di discesa del testicolo nella borsa scrotale in epoca fetale ed i fisiologici processi di spermatogenesi.

Nella popolazione italiana di sesso maschile, la presenza della mutazione T222P nel gene *RXFP2* conferisce un rischio moderato di andar incontro a criptorchidismo e alterazioni della spermatogenesi, fino alla completa assenza di cellule germinali. La medesima mutazione è stata anche individuata in soggetti con normale discesa testicolare e normali parametri seminali, pertanto non si ritiene che esista un preciso rapporto di causa-effetto tra genotipo mutato e fenotipo patologico e si ipotizza che ulteriori fattori genetici e ambientali contribuiscano a determinare l'insorgenza o meno dei problemi testicolari. Tuttavia sussiste un 50% di possibilità di trasmettere la mutazione alla prole: i figli maschi mutati ereditano il rischio di presentare criptorchidismo o alterata spermatogenesi; le figlie femmine mutate sono solo portatrici sane dell'alterazione genetica, ma possono trasmetterla, a loro volta, al 50% dei figli maschi, conferendo loro il rischio di essere affetti da criptorchidismo e/o alterazioni della spermatogenesi. Nel caso la coppia generi prole maschile, sarà indicato il monitoraggio della discesa testicolare nei primi anni di vita, poiché le tempistiche dell'orchidopessi (da eseguirsi entro i due anni di vita) risultano cruciali per evitare la permanenza del testicolo al di fuori della sacca scrotale con danni strutturali irreversibili che possano compromettere la futura fertilità del soggetto; inoltre la corretta gestione del testicolo non disceso aumenta le possibilità diagnostiche precoci di malignità gonadiche.

Il recettore dell'ormone *INSL3* svolge un ruolo importante nel metabolismo osseo e le mutazioni di *RXFP2* sono state correlate a riduzione della massa ossea in età giovane adulta; è pertanto raccomandabile sottoporre i pazienti con la mutazione a densitometria ossea e relativo follow-up.

### **Mutazioni monogeniche: geni associati ad ipogonadismo ipogonadotropo**

Gli ipogonadismi ipogonadotropici congeniti (CHH) sono dei disordini rari provocati da una deficitaria produzione, secrezione o azione dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), il principale ormone che regola l'asse riproduttivo. Sono condizioni geneticamente eterogenee, per le quali ad oggi sono stati individuati più di 25 diversi geni causativi, e si manifestano clinicamente con assenza della pubertà o infertilità.

Circa il 50% dei CHH sono rappresentati dalla Sindrome di Kallmann (KS), una patologia genetica dovuta ad un difetto della migrazione embrionale dei neuroni che sintetizzano GnRH a livello dell'ipotalamo e dell'epitelio olfattivo. Il quadro clinico prevede pertanto l'associazione tra ipogonadismo ipogonadotropo e ipo/anosmia per ipolasia/aplasia dei bulbi olfattivi. La prevalenza della KS, probabilmente sottostimata, è di 1/8.000 maschi e 1/40.000 femmine. I geni-malattia sono *KAL1* (Xp22.32) per la forma legata all'X; *FGFR1* (8p12), *FGF8* (10q25-q26), *CHD7* (8q12.2) e *SOX10* (22q13.1) per la forma AD; *PROKR2* (20p12.3), e *PROK2* (3p21.1), per le forme AR e oligogeniche.

### **Altre mutazioni monogeniche rare**

Ad oggi sono oltre 200 le condizioni genetiche in cui si annoveri la presenza di infertilità maschile (database *OMIM, On Line Mendelian Inheritance in Man*: <http://www.ncbi.nlm.gov>). Per molte di esse l'infertilità compare tra le manifestazioni cliniche della sindrome ma non ne costituisce il segno principale o il problema che porta il paziente dal medico. Altre alterazioni geniche invece possono causare infertilità come segno principale nel contesto di uno quadro clinico specifico; prese singolarmente tali condizioni hanno una prevalenza molto bassa e i relativi test genetici vanno richiesti solamente quando vi sia indicazione stringente sulla base di un fondato sospetto clinico.

In seguito alla diffusione su larga scala delle tecnologie più avanzate di analisi molecolare emergono sempre nuovi fattori di rischio genetici dell'infertilità maschile, sebbene le conoscenze in merito restino ancora limitate.

È stato individuato sul braccio corto del cromosoma 3 (regione 3p24) un omologo autosomico del gene *DAZ* (che mappa invece nella regione AZFc del cromosoma Y), denominato *DAZL* (DAZ-like); si ipotizza che alterazioni a suo carico possano incidere sui difetti della spermatogenesi.

Nei casi di storia riproduttiva di aneuploidie ricorrenti nei prodotti del concepimento, in presenza di normale cariotipo parentale, è possibile ipotizzare una causa genetica di predisposizione allo sviluppo di errori di segregazione meiotica dei cromosomi al momento della formazione dei gameti. L'ipotesi prevalente in letteratura è che, alla base di storie riproduttive di questo tipo, vi sia un possibile disordine poligenico, dipendente dalla concomitanza di più fattori genetici e di fattori ambientali, o una mutazione costituzionale di un singolo gene importante per la segregazione meiotica dei cromosomi. Alcuni studi condotti su popolazioni di origine diversa suggerirebbero che variazioni a carico del gene *SYCP3* – codificante per una componente essenziale del complesso sinaptonemale, struttura fondamentale nell'interazione tra cromosomi omologhi – possano conferire una maggior suscettibilità alla non disgiunzione dei cromosomi durante la profase della prima divisione meiotica, alterando il normale appaiamento degli stessi, con la formazione di prodotti del concepimento aneuploidi, determinando un aumento del rischio di aneuploidie embrionali.

### **Mutazioni di geni codificanti per la catena respiratoria mitocondriale**

Le diverse componenti della catena respiratoria mitocondriale sono sintetizzate a partire da geni in parte nucleari e in parte del genoma mitocondriale (mtDNA). Considerata l'elevata richiesta di ATP degli spermatozoi, le mutazioni che compromettono la catena respiratoria esercitano un profondo impatto sulla motilità spermatica, provocando infertilità maschile.

Sul braccio lungo del cromosoma 15 (regione 15q25) mappa il gene *POLG* codificante per la DNA polimerasi gamma con ruolo chiave nell'elongazione e nel riparo del DNA mitocondriale, mutazioni a suo carico favoriscono l'accumulo di danni ossidativi e alterazioni del genoma mitocondriale dello spermatozoo con infertilità maschile.

### **Mosaicismi somatici e gonadici**

I portatori di mosaicismo per riarrangiamenti sbilanciati possono mostrare deficit riproduttivo, infertilità e storia di ISG ricorrenti con la partner. Le condizioni di mosaicismo somatico/gonadico (situazione in cui l'anomalia genetica non è omogeneamente presente nell'individuo ma coinvolge solo talune linee cellulari) per riarrangiamenti cromosomici strutturali degli autosomi, per quanto rare, possono determinare interruzioni spontanee ripetute di gravidanza nei soggetti portatori. L'identificazione del mosaicismo gonadico è molto problematica, essendo asintomatico e criptico per il portatore. Ad oggi non sono stati pubblicati dati circa il profilo citogenetico dei riarrangiamenti cromosomici strutturali in mosaico e poco è noto in merito al *timing*, al meccanismo di formazione e di mantenimento degli stessi, né è stata stabilita la prevalenza dei pazienti che ne sono portatori. In letteratura sono stati identificati finora poco più di 100 casi di mosaicismo per riarrangiamenti non centromerici in cui sia stato specificato il sesso del portatore. Si osserva una leggera predominanza maschile tra i portatori di mosaicismo per riarrangiamenti bilanciati, mentre emerge una forte predominanza femminile tra i portatori di mosaicismo per riarrangiamenti sbilanciati, suggerendo una selezione specifica per l'uomo contro le cellule anomale

piuttosto che la compromissione della gametogenesi maschile, e quindi una prognosi migliore per feti di sesso maschile.

Per completezza e a livello più strettamente didattico, è possibile annoverare tra i fattori genetici maschili (ma non esclusivamente maschili) causativi di aborti ripetuti l'eventuale presenza di condizioni di mosaicismo germinale (ovvero mutazione genetica confinata unicamente al DNA degli spermatozoi) per specifiche malattie autosomiche dominanti e X-linked a fenotipo tanto grave da compromettere lo sviluppo embrio-fetale, condizionando l'interruzione spontanea e ripetuta della gravidanza. Nel caso invece di patologie genetiche a trasmissione autosomica recessiva, all'eventuale fattore maschile dato dallo stato di portatore sano eterozigote di mutazione recessiva (sia in forma omogenea che in forma di mosaico coinvolgente le cellule germinali) dovrà combinarsi un evento mutazionale sulla copia allelica materna, o come evento "de novo" generatosi al momento della generazione dell'embrione o come condizione ereditata dal genoma materno (partner femminile portatrice sana). E' raro che sul DNA del materiale abortivo vengano eseguiti approfondimenti molecolari diversi rispetto al cariotipo standard. Esami genetici mirati, come la ricerca di CNV (copy number variation) e la ricerca di mutazioni puntiformi su singolo gene, vengono svolti solo in alcuni centri e su specifico sospetto clinico postulato in base alle notizie anamnestiche familiari e relative alla gravidanza e ad eventuali segni clinici embrio-fetali, inclusi quelli raccolti mediante lo studio dismorfologico del prodotto del concepimento svolto al momento dell'espulsione. Non sono pertanto disponibili dati relativi all'impatto che le malattie monogeniche e i disturbi genomici da microdelezione/microduplicazione cromosomica possano avere negli aborti ripetuti, né se esista una predominanza degli stessi nei gameti maschili o femminili.

### **Infertilità genetica maschile e rischio riproduttivo**

In generale, questi pazienti hanno un rischio riproduttivo superiore rispetto alla popolazione generale, in particolare per anomalie dei cromosomi sessuali. A tal proposito non si è ancora raggiunto un pieno consenso in merito, ma la proposta prevalente sarebbe di sottoporre ad analisi del cariotipo ciascun soggetto infertile (sia esso azoo- oligo o normospermico) con duplice finalità: a scopo diagnostico dell'infertilità e con finalità di screening, considerata la possibilità che alterazioni cromosomiche "più lievi" (47,XXY, traslocazioni, etc.) non diano effetti evidenti all'analisi del liquido seminale ma portino alla presenza di spermatozoi con corredo genetico sbilanciato.

### **Bibliografia**

- Aittomäki K, Wennerholm UB, Bergh C, Selbing A, Hazekamp J, Nygren KG. Safety issues in assisted reproduction technology: should ICSI patients have genetic testing before treatment? A practical proposition to help patient information. *Hum Reprod* 2004;19:472-6.
- Ars E, Lo Giacco D, Bassas L, Nuti F, Rajmil O, Ruiz P, Garat JM, Ruiz-Castané E, Krausz C. Further insights into the role of T222P variant of RXFP2 in non-syndromic cryptorchidism in two Mediterranean populations. *Int J Androl*. 2011;34(4):333-8.
- Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W; The EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. *Eur Urol* 2005;48:703-11.
- Ferlin A, Arredi B, Speltra E, Cazzadore C, Selice R, Garolla A, Lenzi A, Foresta C. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:762-70.
- Ferlin A<sup>1</sup>, Vinanzi C, Garolla A, Selice R, Zuccarello D, Cazzadore C, Foresta C. Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Nov;65(5):606-10.
- Foresta C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur J Hum Genet* 2002;10:303-12.
- Foresta C, Garolla A, Bartoloni L, Bettella A, Ferlin A. Genetic abnormalities among severely oligospermic men who are candidates for intracytoplasmic sperm injection. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:152-6.
- Gazvani R, Lewis-Jones I. Cystic fibrosis screening in assisted reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006;18:268-72.
- Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Briault S, Rio M, Bourouillou G, Carré-Pigeon F, Wasels R, Benzacken B; Association des Cytogeneticiens de Langue Francaise. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod* 2001;16:82-90.
- Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. Prenatal testing among women pregnant after assisted reproductive techniques in Denmark 1995-2000: a national cohort study. *Hum Reprod* 2008;23:1545-52.
- Hudson G, Chinnery F. P. Mitochondrial DNA polymerase-gamma and human disease. *Hum Mol Genetics*, 2006. R 244-252.
- Kavita Shah, Gayathri Sivapalan, Nicola Gibbons, Helen Tempest and Darren K. Griffin. The genetic basis of infertility. *Reproduction* (2003) 126, 13-25.
- Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014; 2(1): 5-19.

Li X<sup>1</sup>, Li H<sup>2</sup>, Jia L<sup>3</sup>, Li X<sup>4</sup>, Rahman N<sup>5</sup>. Oestrogen action and male fertility: experimental and clinical findings. *Cell Mol Life Sci.* 2015 Oct;72(20):3915-30.

Li, Chao-Liang Hao, Qian Wang, Xiao-Mei Yi, Zhi-Sheng Jiang. H19 gene methylation status is associated with male infertility. *Exp Ther Med.* 2016;12(1): 451-456.

Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological Association; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Report on optimal evaluation of the infertile male. *FertilSteril* 2006;86:S202-9.

Morea A, Cameran M, Rebuffi AG, Marzenta D, Marangon O, Picci L, Zacchello F, Scarpa M. Gender-sensitive association of CFTR gene mutations and 5T allele emerging from a large survey on infertility. *Mol Hum Reprod* 2005;11:607-14.

Nie X<sup>1</sup>, Arend LJ. Pkd1 is required for male reproductive tract development. *Mech Dev.* 2013;130(11-12):567-76.

O'Hara L, Smith LB. Androgen receptor roles in spermatogenesis and infertility. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(4):595-605.

Peschka B, Leygraaf J, Van der Ven K, Montag M, Schartmann B, Schubert R, van der Ven H, Schwanitz G. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999;14:2257-63.

Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med. J.* 2009; 50(4): 336-47.

Riccaboni A, Lalatta F, Caliarì I, Bonetti S, Somigliana E, Ragni G. Genetic screening in 2,710 infertile candidate couples for assisted reproductive techniques: results of application of Italian guidelines for the appropriate use of genetic tests. *FertilSteril* 2008;89:800-8.

Sazegari A, Kalantar SM, Pashaiefar H, Mohtaram S, Honarvar N, Feizollahi Z, Ghasemi N. The T657C polymorphism on the Sycp3 gene is associated with recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31:1377-1381.

Smith-Whitley K<sup>1</sup>. Reproductive issues in sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2014;2014(1):418-24.

Stupia L, Antonucci I, Binni F, Brandi A, Grifone N, Colosimo A, De Santo M, Gatta V, Gelli G, Guida V, Majore S, Calabrese G, Palka C, Ravani A, Rinaldi R, Tiboni GM, Ballone E, Venturoli A, Ferlini A, Torrente I, Grammatico P, Calzolari E, Dallapiccola B. Screening of mutations in the CFTR gene in 1195 couples entering assisted reproduction technique programs. *Eur J Hum Genet* 2005;13:959-64.

Xiao-Ping Yong EL, Loy CJ, Sim KS. Androgen receptor gene and male infertility. *Hum Reprod Update.* 2003;9(1):1-7.

[www.orpha.net](http://www.orpha.net)