



# Linee Guida per la diagnosi genetica della coppia infertile

## MANCA titolo inglese

C. FORESTA, A. FERLIN

Centro di Crioconservazione dei Gameti Maschili, Università di Padova

### Introduzione

Nonostante l'alta prevalenza dell'infertilità, la ricerca si è focalizzata solo di recente sui fattori genetici che possono causare infertilità maschile e femminile. È ormai chiaro che alterazioni genetiche sono presenti in circa il 15% degli uomini e nel 10% delle donne infertili, ed includono sia alterazioni cromosomiche che mutazioni di singoli geni. Le tecniche di riproduzione assistita rendono possibile che alterazioni genetiche possano essere trasmesse ai figli e tale rischio è in molti casi veramente elevato. La ICSI ha suscitato i dubbi maggiori circa un possibile aumento di malattie genetiche nei figli, poiché essa oltrepassa i normali meccanismi fisiologici della fecondazione. Tuttavia il rischio di trasmissione riguarda anche la FIVET e l'inseminazione endouterina (IUI), poiché anche soggetti infertili normozoospermici possono essere portatori di anomalie genetiche (per esempio 47,XYY). La selezione naturale previene la trasmissione di mutazioni che provocano infertilità, mentre tale meccanismo protettivo viene sorpassato dalle tecniche di riproduzione assistita. Il rischio è quindi che tali difetti genetici persistano o addirittura aumentino nelle generazioni future. L'identificazione di fattori genetici in una coppia infertile è pertanto obbligatoria sia per una diagnosi ed un trattamento accurati che ai fini prognostici.

La mancanza di regole nazionali ed internazionali per la diagnosi di difetti genetici nella coppia infertile ha spinto i ricercatori e i clinici italiani che si occupano di Medicina della Riproduzione a mettere a punto alcune Linee Guida. Si è pertanto dato vita ad una *Consensus Conference* con lo scopo di esprimere su questo complesso e delicato problema opinioni e suggerimenti condivisi dalla comunità medico-scientifica che in Italia opera nell'ambito della riproduzione umana.

Il Comitato di esperti include le diverse discipline coinvolte nella riproduzione umana (Ginecologia, Andrologia, Endocrinologia, Biologia della Riproduzione, Urologia, Embriologia e Genetica) ed è costituito da rappresen-

tanti ufficialmente designati dalle seguenti Società Scientifiche italiane e straniere: Associazione Ginecologi Extra Ospedalieri (AGEO), Società Italiana di Andrologia (SIA), Società Italiana di Andrologia Medica (SIAM), Società Italiana di Ecografia Urologica, Andrologica e Nefrologica (SIEUN), Società Italiana di Embriologia e Riproduzione (SIER), Società Italiana di Endocrinologia (SIE), Società Italiana di Fertilità e Sterilità (SIFES), Società Italiana di Fisiopatologia della Riproduzione (SIFR), Società Italiana di Genetica Umana (SIGU), Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO), Società Italiana di Riproduzione (SIDR), Società Italiana di Urologia (SIU), *American Society of Andrology* (ASA), *European Academy of Andrology* (EAA), *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE), *International Society of Immunology of Reproduction* (ISIR).

Il Comitato ha lavorato per cinque mesi e nel febbraio 2001 i risultati sono stati discussi ad un convegno tenutosi ad Abano Terme (PD). La bozza del documento conclusivo è rimasta disponibile su Internet per un altro mese per raccogliere ogni ulteriore eventuale commento e poi è stato preparato il documento definitivo. Esso rappresenta quindi un reale "consensus" che qui di seguito viene brevemente sintetizzato.

Nelle Linee Guida non sono state incluse tutte le cause di infertilità ma solamente quelle clinicamente rilevanti, sia in termini di prevalenza nell'infertilità maschile e femminile che come rischio di trasmissione ai figli. Inoltre esse sono state concepite per un uso clinico e quindi non analizzano gli aspetti tecnici legati a ciascun test genetico. Poiché questo campo è in rapida espansione le Linee Guida e l'approccio diagnostico, qui di seguito proposto, saranno periodicamente rivisti.

### Infertilità maschile

Le conoscenze sui meccanismi molecolari della spermatogenesi sono in rapida evoluzione ed è probabile

**Tab. I.** Classificazione delle cause genetiche di infertilità maschile.

Aberrazioni cromosomiche (omogenee o in mosaico)	
Cromosomi sessuali	
47,XXY (sindrome di Klinefelter)	
47,XXY e altre aneuploidie-XX	
Maschio 46,XX 45,X	
Aberrazioni strutturali del cromosoma Y	
Delezioni	
Anelli	
Isocromosomi	
Inversioni	
Autosomi	
Traslocazioni Robertsoniane	
Traslocazioni reciproche	
Inversioni	
Sindromi cliniche	
Trisomia 21	
Duplicazioni e delezioni parziali	
Eteromorfismo cromosomici	
Inv (9)	
Inversione familiare dell'Y	
Yq +	
Mutazioni geniche	
Legate all'Y	
Microdelezioni dell'Yq11	
Legate all'X	
Sindrome di Kallmann	
Sindrome da insensibilità agli androgeni	
Autosomiche	
Sindromi genetiche complesse in cui l'infertilità è una manifestazione minore (Tab. III)	
Infertilità è come manifestazione maggiore	
CFTR	
Geni per le subunità $\beta$ di LH e FSH e geni per i recettori di LH e FSH	
Alterazioni cromosomiche confinate agli spermatozoi	
Gravi testicolopatie primarie	
Post-chemio- e radio-terapia	

che molti altri geni coinvolti nell'infertilità maschile verranno identificati nei prossimi anni. Le ricerche più recenti hanno permesso di chiarire che diverse alterazioni genetiche hanno un'importante rilevanza clinica, sia come causa di infertilità maschile che in termini di rischio di trasmissione mediante metodiche di riproduzione assistita. Queste alterazioni includono sia aberrazioni cromosomiche che mutazioni di specifici geni.

La Tabella I riassume le cause genetiche di infertilità maschile poste in discussione. La Tabella II elenca i

test genetici che il Comitato raccomanda di includere nell'uso clinico.

#### ANALISI DEL CARIOTIPO

È noto da più di 20 anni che la prevalenza di anomalie cromosomiche è maggiore nei maschi infertili e la percentuale è inversamente proporzionale alla conta spermatica. Rispetto alla popolazione generale le alterazioni cromosomiche sono molto comuni nei partner maschili di coppie sottoposte a ICSI. Sono stati condotti diversi studi in passato dai quali risulta che l'incidenza di fattori cromosomici nei soggetti infertili è compresa tra il 2 e l'8% con un valore medio di circa il 5%. Questa percentuale aumenta fino al 15% nei soggetti azoospermici nei quali l'anomalia maggiore è rappresentata dall'aneuploidia 47,XXY. Le alterazioni dei cromosomi sessuali sono l'anomalia maggiore nei soggetti azoospermici, ma nei pazienti infertili si possono riscontrare anche diverse anomalie strutturali degli autosomi, che includono le traslocazioni Robertsoniane e reciproche, inversioni, duplicazioni e delezioni.

Nei soggetti infertili sottoposti ad ICSI in Francia il 3,7% ha anomalie dei cromosomi sessuali ed il 2,4% ha anomalie degli autosomi. Nei soggetti azoospermici le anomalie dei cromosomi sessuali si ritrovano nel 15,9% e anomalie degli autosomi nel 2,8% dei casi. È interessante notare che nei soggetti normozoospermici la percentuale delle alterazioni cromosomiche era del 3,0%, comprendente sia aneuploidie dei cromosomi sessuali (per esempio 47,XXY e mosaicismi) (1,4%) e anomalie strutturali bilanciate (1,6%). Studi preliminari sulle gravidanze ottenute mediante ICSI suggeriscono che le alterazioni dei cromosomi sessuali sono più frequenti rispetto alle gravidanze naturali. In generale i bambini nati mediante ICSI hanno un più alto rischio di anomalie cromosomiche. Anche se i dati sono ancora contrastanti sembra che la percentuale di alterazioni cromosomiche nei nati ICSI sia nell'ordine del 3%, la metà delle quali viene trasmessa dal padre.

Data la frequenza delle aberrazioni cromosomiche nei soggetti infertili con testicolopatia grave, il Comitato ha raccomandato l'analisi del cariotipo durante il processo diagnostico dei soggetti con azoospermia e grave oligozoospermia. In questi pazienti lo *screening* citogenetico è obbligatorio prima di qualsiasi forma di riproduzione assistita. Inoltre l'analisi del cariotipo dovrebbe essere eseguito nei pazienti candidati a metodiche di fecondazione assistita (inclusa la IUI) anche quando i parametri seminali sono nella norma o solo leggermente alterati. Infine, poiché alcune anomalie cromosomiche (come il 47,XXY) si possono ri-

**Tab. II.** Test genetici nell'infertilità maschile.

	Azoospermia	Grave oligozoospermia (conta spermatica < 10 x 10 <sup>6</sup> /ml)	Moderata oligozoospermia (conta spermatica 10-20 x 10 <sup>6</sup> /ml) e normozoospermia
Cariotipo	– Durante l'iter diagnostico – Prima di ART	– Durante l'iter diagnostico – Prima di ART	– Dopo un anno di rapporti mirati – Prima di ART
Microdelezioni del cromosoma Y	– Durante l'iter diagnostico (non ostruttiva) – Prima di ART	– Durante l'iter diagnostico – Prima di ART	—
CFTR	– Durante l'iter diagnostico (CBAVD) – Prima di ART	– Durante l'iter diagnostico (CUAVD) – Prima di ART	—
KAL1	– Durante l'iter diagnostico (HH)	—	—
Recettore per gli androgeni	Suggerito: – Durante l'iter diagnostico (alto ASI)	Suggerito: – Durante l'iter diagnostico (alto ASI)	—
5 a-reduttasi 2	Suggerito: – Casi clinici selezionati	Suggerito: – Casi clinici selezionati	—
Analisi delle aneuploidie spermatiche mediante FISH	—	Non suggerito: – Eventualmente durante l'iter diagnostico – Dopo radio – Chemioterapia	—

scontrare in soggetti con un'apparente normozoospermia, l'analisi del cariotipo dovrebbe essere eseguita se dopo un anno di rapporti mirati non è stata ancora ottenuta una gravidanza.

#### MICRODELEZIONI DEL BRACCIO LUNGO DEL CROMOSOMA Y

Molti studi hanno chiarito che le microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y (Yq) rappresentano una causa frequente di infertilità maschile. Esistono tre diversi loci chiamati “*azoospermia factors*” (AZ-Fa, b e c) e diversi geni sono stati isolati da queste regioni, ma anche altri geni che mappano nell'Yq potrebbero avere un loro ruolo nel determinare il fenotipo dei pazienti deleti. Le microdelezioni dell'Yq determinano una grave testicolopatia che si esprime con azoospermia o grave oligozoospermia. In generale la prevalenza di microdelezioni dell'Yq nei soggetti infertili è stimata attorno al 10%. In pazienti selezionati questa percentuale aumenta al 15% nei pazienti con grave oligozoospermia idiopatica e al 20% in quelli con azoospermia non ostruttiva idiopatica. Microdelezioni si possono anche riscontrare nei soggetti con grave testicolopatia associata ad altre cause

di danno testicolare come il varicocele o il criptorchidismo.

I pazienti con microdelezioni dell'Yq hanno frequentemente spermatozoi nell'ejaculato o nei testicoli e pertanto sono spesso candidati a tecniche di fecondazione assistita. In questi casi l'anomalia genetica viene sicuramente trasmessa all'eventuale figlio maschio che quindi erediterà la stessa malattia del padre (l'infertilità). Tuttavia la reale conseguenza di questa trasmissione non è tuttora chiara e il recente riscontro di aneuploidie spermatiche nei pazienti con microdelezioni (con conseguente rischio di generare figlie affette da sindrome di Turner) impone problemi sia medici che etici.

Il Comitato ha suggerito di eseguire l'analisi delle microdelezioni dell'Yq durante l'approccio diagnostico dei soggetti infertili con azoospermia non ostruttiva e grave oligozoospermia, indipendentemente dalla presenza di altre possibili cause di danno testicolare. Questa analisi non è indicata quando la concentrazione spermatica è maggiore di 10 milioni per millilitro. Inoltre tutti i soggetti con azoospermia non ostruttiva e grave oligozoospermia dovrebbero

bero essere sottoposti a quest'analisi prima di metodiche di fecondazione assistita.

#### GENE CFTR

Un individuo su 2.500 è affetto da fibrosi cistica e uno su 25 è portatore asintomatico eterozigote. Il gene CFTR è localizzato sul cromosoma 7q31.1-31.2 e la mutazione più frequente è rappresentata dalla delezione di una fenilalanina in posizione 508 (DF508), ma esistono più di 800 mutazioni diverse.

L'agenesia bilaterale dei vasi deferenti (CBAVD) rappresenta in molti casi una forma lieve o incompleta di fibrosi cistica, infatti circa il 70-80% di questi soggetti sono eterozigoti o eterozigoti composti per una mutazione CFTR. Una particolare mutazione associata alla CBAVD è chiamata "5T allele" (il normale allele ha 7T o 9T nucleotidi nell'introne 8), che causa la mancata trascrizione dell'esone 9 e bassi livelli di espressione della proteina CFTR. Anche l'agenesia monolaterale dei deferenti (CUAVD) può essere associata a mutazioni CFTR. Sebbene la prevalenza delle mutazioni in questo gruppo di soggetti sia molto variabile in diversi studi (dall'11 al 75%), si ritiene comunque che un certo numero di CUAVD sia causato dalla mancanza della proteina CFTR. In ogni caso i soggetti con CBAVD o CUAVD hanno una normale spermatogenesi e quindi sono candidati alla ICSI utilizzando spermatozoi eiaculati, epididimali o intratesticolari. In questi casi il rischio maggiore è rappresentato da figli affetti da fibrosi cistica conclamata in quei casi in cui anche la partner femminile sia eterozigote composta per una mutazione CFTR. Il Comitato ha suggerito di eseguire lo *screening* delle mutazioni CFTR (incluso l'allele 5T) nei soggetti infertili con CBAVD o CUAVD. Se la coppia è candidata a tecniche di riproduzione assistita il test dovrebbe essere eseguito sia nel maschio che nella partner femminile e andrebbe offerto un servizio di consulenza genetica.

#### GENE KAL1

La sindrome di Kallmann colpisce un maschio su 10.000 e consiste di un ipogonadismo ipogonadotropo (HH) isolato, idiopatico e congenito associato ad anosmia. Esistono tre differenti forme di sindrome di Kallmann ereditate come forme legate all'X o autosomiche dominanti o recessive. La forma legata all'X causa il 10-15% delle sindromi di Kallmann. Il gene di questa forma, KAL1, codifica per una proteina (anosmina) con un ruolo centrale nella migrazione dei neuroni GnRH e dei nervi olfattori all'ipotalamo. Altre manifestazioni cliniche in questi soggetti

possono includere criptorchidismo, agenesia renale monolaterale, palatoschisi e cecità per i colori.

Sebbene la sindrome di Kallmann sia rara e l'analisi di mutazioni del gene KAL1 non sia facilmente eseguibile, il Comitato ha raccomandato di includere lo *screening* del gene KAL1 in tutti i soggetti azoospermici con HH e anosmia. Questa decisione è anche motivata dal fatto che un trattamento ormonale può riportare la fertilità in questi soggetti, ma ciò rende possibile la trasmissione del difetto genetico ai figli.

#### GENE PER IL RECETTORE DEGLI ANDROGENI

La sindrome da insensibilità agli androgeni è una malattia recessiva legata all'X causata da un'anomalia del gene per il recettore degli androgeni (AR) che è localizzato in Xq11-12. I soggetti affetti possono presentare diversi fenotipi che variano da un fenotipo femminile completo all'ambiguità genitale al maschio infertile. Sono state riportate più di 300 mutazioni nel gene AR, la maggior parte delle quali è rappresentata da mutazioni puntiformi che portano a sostituzione aminoacidica. I maschi infertili con mutazioni dell'AR presentano azoospermia o grave oligozoospermia, sia come manifestazione isolata che associata ad altre anomalie dovute ad una scarsa sensibilità agli androgeni (come criptorchidismo, ipospadia, ginecomastia, scarsa virilizzazione). Questi soggetti hanno un particolare profilo ormonale con aumentati livelli plasmatici di LH e testosterone normale o aumentato. Il prodotto LH per testosterone (espresso in U x nmol/l2), chiamato indice di sensibilità agli androgeni (ASI), può essere utile nell'identificare i pazienti a rischio di mutazioni del gene AR. La frequenza di mutazioni nei soggetti infertili con azoospermia o grave oligozoospermia è del 2-3%. Poiché la stessa mutazione può essere associata a diversi fenotipi, non si possono prevedere le conseguenze cliniche nei bambini nati mediante tecniche di riproduzione assistita e la coppia deve essere informata circa la possibilità di un peggioramento delle manifestazioni cliniche nei figli che ereditano il difetto genetico. Un'espansione della tripletta CAG nell'esone 1 (più di 40 ripetizioni) causa l'atrofia muscolare spino-bulbare (SBMA o malattia di Kennedy). Non è ancora chiaro se un'espansione minore di triplette CAG causi un difetto isolato della spermatogenesi.

Solo pochi studi sono stati eseguiti per valutare le mutazioni del gene AR nei soggetti infertili senza altre anomalie congenite. In ogni caso il Comitato ha suggerito di eseguire il test nei soggetti azoospermici e gravemente oligozoospermici con un alto ASI,



anche se questa non è una regola assoluta. Inoltre in questi soggetti il test dovrebbe essere comunque effettuato come analisi di secondo livello dopo l'analisi del cariotipo. Ovviamente l'analisi genetica del gene AR dovrebbe essere eseguita quando ci sono altre manifestazioni cliniche di insensibilità agli androgeni. Poiché il ruolo delle triplette CAG nell'infertilità maschile è ancora dibattuto, questa analisi non dovrebbe essere inclusa nella pratica clinica.

#### GENE 5 $\alpha$ -REDUTTASI-2 (SRD5A2)

Questo enzima converte il testosterone in 5 $\alpha$ -diidrotosterone in specifici tessuti androgeno-dipendenti. Il deficit della 5 $\alpha$ -reduttasi-2 causa pseudoermafroditismo maschile che normalmente si manifesta alla nascita con ipospadia perineo-scrotale pseudovaginale. Una certa virilizzazione avviene alla pubertà con crescita del pene e discesa testicolare. I soggetti adulti possono presentare azoospermia o grave oligozoospermia talvolta associate a testicoli ritenuti e ipospadia. Sono state riportate gravidanze mediante inseminazione endouterina in pazienti con deficit della 5 $\alpha$ -reduttasi.

Data la bassa incidenza di anomalie del gene 5 $\alpha$ -reduttasi nei soggetti infertili il Comitato ha ritenuto di suggerire questa analisi solamente in casi selezionati che presentano caratteristiche particolari.

#### ANALISI DELLE ANEUPLOIDIE SPERMATICHE

I maschi normali producono una percentuale variabile (tra l'1 ed il 15%) di spermatozoi con aberrazioni cromosomiche, la maggior parte delle quali rappresentato da alterazioni strutturali (circa 90%). Alcuni dati suggeriscono che alcune condizioni cliniche collegate ad infertilità maschile sono associate ad un'augmentata percentuale di spermatozoi ipo- o iperaploidi. Nei soggetti infertili con grave testicolopatia le anomalie numeriche spermatiche sono aumentate come conseguenza di alterazioni mitotiche e meiotiche. Inoltre la chemioterapia e la radioterapia hanno un effetto dannoso sulla spermatogenesi che persiste fino a sei mesi dopo la fine della terapia. L'ibridizzazione *in situ* fluorescente (FISH), che rappresenta la tecnica di studio delle aneuploidie spermatiche, ha tuttavia alcune limitazioni. Infatti non è in grado di individuare le anomalie strutturali, solo pochi spermatozoi possono essere studiati ed ha alcuni problemi tecnici legati alla ibridizzazione. Al momento attuale quindi non esiste un accordo unanime circa l'utilizzo della FISH nella pratica clinica ed il Comitato non ha suggerito questa analisi come test di routine nei soggetti infertili. Se ulteriori dati speri-

mentali dimostreranno l'efficacia di questa metodica allora la FISH dovrebbe essere eseguita nelle gravi testicolopatie primarie e dopo trattamenti radio- e chemioterapici. Almeno i cromosomi sessuali ed il cromosoma 21 dovrebbero essere inclusi in questa analisi.

#### ALTRE CONDIZIONI

Altre anomalie genetiche sono state considerate dal Comitato, ma non sono state incluse come test da effettuarsi di routine nei soggetti infertili perché estremamente rare o perché mancano ancora dati scientifici certi. Tali alterazioni comprendono mutazioni in geni essenziali per lo sviluppo gonadico e la funzione testicolare (deficit di enzimi della steroidogenesi, mutazioni nei geni delle subunità  $\beta$  dell'LH e FSH e dei recettori per LH e FSH), e geni pleiotropici le cui mutazioni alterano anche la spermatogenesi (distrofia miotonica, DAX1). Inoltre molti difetti genetici possono alterare la spermatogenesi, ma le manifestazioni cliniche sono così complesse che l'infertilità in realtà rappresenta solo un'espressione minore.

## Infertilità femminile

A parte le anomalie cromosomiche, le alterazioni dello sviluppo sessuale femminile e della funzione riproduttiva possono essere causate da difetti di geni che agiscono a vari livelli dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaie o nella biosintesi gonadica e surrenalica di steroidi e dei loro recettori. Inoltre, alcune condizioni cliniche comuni come la sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) o la menopausa precoce (POF) possono avere un'origine genetica. I progressi tecnici nel campo delle tecniche di riproduzione assistita hanno ancor più stimolato la ricerca in questo settore. Di conseguenza alcuni aspetti particolari legati a queste metodiche, come la scarsa risposta ovarica all'iperstimolazione (donne "*poor responders*"), sono stati analizzati come di possibile origine genetica. Infine, una relazione causale è stata stabilita tra alcune anomalie cromosomiche e la poliabortività. In Tabella III sono riassunte le cause genetiche di infertilità femminile mentre in Tabella IV sono indicati i test genetici che il Comitato ha suggerito di eseguire.

#### ANALISI DEL CAROTIPO

La sindrome di Turner è la più comune alterazione cromosomica nelle donne infertili, ma si possono riscontrare con una certa frequenza anche diverse aberrazioni strutturali autosomiche. La frequenza delle

**Tab. III.** Classificazione delle cause genetiche di infertilità femminile.

Aberrazioni cromosomiche (omogenee o in mosaico)	
Cromosomi sessuali	
	Sindrome di Turner e disgenesi gonadiche con bassa statura (45,X; mosaicismi di tipo 45,X/46,XX e 45,X/47,XXX; isocromosoma Xq; del(Xq); del(Xp); r(X) ecc.)
	Disgenesi gonadiche con linea cellulare Y
	Disgenesia mista (45,X/46,XY)
	Disgenesia gonadica 46,XY (Sindrome di Swyer)
	Ermafroditismo vero con linea cellulare Y
	Traslocazioni X-autosomiche
	47,XXX e mosaicismi
Autosomi	
	Traslocazioni Robertsoniane
	Traslocazioni reciproche
	Inversioni
Mutazioni geniche	
Legate all'X	
	Sindrome dell'X fragile (FRAXA)
	Sindrome Kallmann
	Sindrome da completa insensibilità agli androgeni
Autosomiche	
	Sindromi genetiche complesse in cui l'infertilità è una manifestazione minore
	Infertilità come manifestazione maggiore
	Gene per la subunità β dell'FSH e geni per i recettori di LH e FSH
	Gene per il recettore del GnRH
	BPES (blefarofimosi, ptosi, <i>epicanthus inversus</i> )
	Sindrome di Daniys-Drash
	Sindrome di Fresier
Aberrazioni cromosomiche confinate agli ovociti	
Età avanzata	

anomalie cromosomiche nell'infertilità femminile è variabile in diversi studi, ma si può stimare intorno al 5%. Il 2,8% delle partner femminili di coppie sottoposte a ICSI presenta alterazioni numeriche dei cromosomi sessuali, mentre il 2,1% ha anomalie strutturali degli autosomi. Il fenotipo delle donne affette da aberrazioni cromosomiche sessuali è molto variabile, sia in termini di genitali esterni ed interni che di caratteristiche somatiche. Per esempio, le donne con sindrome di Turner o altre sindromi con bassa statura e disgenesia gonadica possono presentare diversi dismorfismi e anomalie. Tuttavia, una caratteristica comune di tutte

queste alterazioni cromosomiche è rappresentata da una disfunzione ovarica primaria (ipergonadotropia) con amenorrea primaria o secondaria (inclusa la POF) o oligomenorrea. Per esempio, circa il 30% delle amenorree primarie è causato dalla sindrome di Turner. Inoltre, le aberrazioni strutturali autosomiche possono causare poliabortività.

Il Comitato ha suggerito di eseguire l'analisi del cariotipo durante la fase diagnostica delle donne infertili con disfunzione ovarica primaria o poliabortività. Questo *screening* è inoltre obbligatorio nelle donne candidate a tecniche di riproduzione assistita. Come per il maschio, l'analisi del cariotipo dovrebbe essere eseguita dopo un anno di rapporti mirati senza risultato, poiché anche in questi casi possono esistere alterazioni del cariotipo (tipo 47,XXX).

#### SINDROME DELL'X FRAGILE (FRAXA)

Rappresenta la più comune causa di ritardo mentale nei maschi ed è causata dalla espansione della tripletta CGG nell'esone 1 del gene FMR1 localizzato in Xq27.3. Nella popolazione generale si riscontrano meno di 50 ripetizioni, mentre più di 200 ripetizioni (mutazione completa) causano il ritardo mentale. Una premutazione è definita come 50-200 ripetizioni e può essere associata con POF in donne per il resto normali. Infatti, il 15-25% delle donne premutate sono affette da POF ed il 6,5% delle donne con POF ha una premutazione FRAXA. Le pazienti che sviluppano POF frequentemente presentano un periodo di oligomenorrea con un progressivo aumento delle gonadotropine. La premutazione è stata inoltre associata ad una scarsa risposta ovarica alla iperstimolazione durante cicli di fecondazione *in vitro*. È importante notare che la premutazione predispone ad un'ulteriore espansione delle triplette nella linea germinale e quindi le donne con premutazione hanno un più alto rischio di concepire figli con ritardo mentale.

Il Comitato ha suggerito di includere questo test nello *screening* diagnostico delle donne con oligomenorrea o amenorrea causata da disfunzione ovarica primaria (inclusa la POF), soprattutto quando queste donne devono essere sottoposte a fecondazione assistita. Lo *screening* di premutazioni dovrebbe anche essere eseguita in donne apparentemente normali ma con bassa risposta ovarica alla iperstimolazione in precedenti cicli FIVET o ICSI.

#### GENE KAL1

La sindrome di Kallmann causata dalla mutazione del gene KAL1 è estremamente rara nelle donne e si presenta con amenorrea primaria ipergonadotropia e ano-

**Tab. IV.** Test genetici nell'infertilità femminile.

	Amenorrea (primaria e secondaria, inclusa la POF) e oligomenorrea con ipergonadotropinismo	Ipogonadismo ipogonadotropo	Apparentemente normale	Aborti ripetuti
Cariotipo	- Durante l'iter diagnostico - Prima di ART	-	- Dopo un anno di rapporti mirati - Prima di ART	- Durante l'iter diagnostico
FRAXA	- Durante l'iter diagnostico - Prima di ART	-	- Prima di ART (scarsa risposta ovarica)	-
KAL1	-	- Durante l'iter diagnostico	-	-
CFTR e	-	-	- Prima di ART	-

smia. Le donne eterozigoti non hanno anomalie evidenti. La sindrome di Kallmann dovrebbe essere sospettata quindi solo nelle donne con HH ed in questi casi dovrebbe essere eseguita l'analisi del gene KAL1.

#### GENE CFTR

Mutazioni del gene CFTR non sono associate sicuramente ad infertilità femminile. Tuttavia, le donne affette da fibrosi cistica hanno un aumentato rischio di complicazioni durante la gravidanza. Vista l'alta prevalenza di mutazioni del CFTR nella popolazione generale e l'alto rischio di mutazioni del CFTR nei maschi sottoposti a ICSI, il Comitato ha suggerito di eseguire il test in tutte le donne candidate a tecniche di riproduzione assistita.

#### ALTRE CONDIZIONI

Come per il maschio anche altre condizioni possono determinare infertilità femminile. Tuttavia, sono

estremamente rare e di scarsa rilevanza clinica per gli specialisti nel campo della riproduzione. Alcuni esempi includono le mutazioni del gene per il recettore degli androgeni che causano una completa insensibilità agli androgeni, le sindromi in cui l'infertilità è una manifestazione minore e le sindromi in cui l'infertilità è una manifestazione maggiore (mutazioni nei geni per i recettori dell'FSH e LH, gene per FSH, gene per il recettore del GnRH).

È da notare che anche le donne con cariotipo normale producono una percentuale variabile (più del 20%) di ovociti con alterazioni cromosomiche. Questa percentuale aumenta con l'avanzare dell'età in conseguenza di alterati *crossing-over* e non disgiunzioni meiotiche. Una consulenza genetica è quindi raccomandata anche quando si effettuano metodiche di riproduzione assistita in donne non più giovani.

