

POLIMORFISM CLINIC ŞI VARIAȚII CITOGENETICE ÎN INFERTILITATEA MASCULINĂ CAUZATĂ DE SINDROMUL KLINEFELTER

**Stela Racoviță¹ – doctorand, asist. univ., Mariana Sprincean^{1,2} – dr. în psihol., conf. univ.,
Moşin Veceslav¹ – dr. hab. şt. med., prof. univ., Hadjiu Svetlana^{1,2} – dr. hab. şt. med., prof.
univ., Natalia Barbova^{1,2} – dr. şt. med., conf. univ., Elena Halabudenco² – medic genetician,
Ana Mişina² – medic citogenetician, Samoilenco Tatiana² – medic citogenetician,
Elena Chesov¹ – doctorand, asist. univ., Radu Guţuleac³ – medic androlog,
Ninel Revenco^{1,2} – dr. hab. şt. med., prof. univ.**

¹ USMF „Nicolae Testemiţanu”

² IMSP Institutul Mamei şi Copilului

³ IMSP Spitalul Clinic Municipal nr.1

guzunstela@gmail.com

Rezumat

Scopul actualei lucrări este de a studia particularităţile polimorfismului clinic şi citogenetic în infertilitatea masculină cauzată de Sindromul Klinefelter pentru diagnosticarea precocă, începând cu cele mai timpurii perioade de dezvoltare ontogenetică şi iniţierea unor măsuri de îmbunătăţire a fertilităţii în sindromul Klinefelter. În cadrul consultului medico-genetic un grup de 58 de pacienţi cu sindromul Klinefelter au fost investigaţi citogenetic la Institutul Mamei şi Copilului.

Consultul medico-genetic în perioadele precece de dezvoltare ontogenetică și analizele citogenetice (cariotiparea) sunt necesare pentru investigarea pacienților cu suspiecție la sindromul Klinefelter în vederea confirmării diagnosticului clinic și acordării sfatului genetic în timp util.

Cuvinte-cheie: Sindromul Klinefelter, infertilitate, consultul medico-genetic, diagnostic, cariotip.

Summary. Clinical and cytogenetic polymorphism in male infertility caused by Klinefelter's syndrome.

The purpose of this paper is to study the peculiarities of clinical and cytogenetic polymorphism in male infertility caused by Klinefelter's syndrome for early diagnosis beginning with the earliest periods of ontogenetic development and initiating measures to improve fertility in Klinefelter's syndrome. A group of 58 patients with Klinefelter syndrome was investigated cytogenetic during medical genetic counseling in the Center for Reproductive Health and Medical Genetics of the Institute of Mother and Child. Medical genetic counseling during early ontogenetic development and cytogenetic analyzes (karyotyping) is necessary for better investigation of patients suspected Klinefelter syndrome to confirm the clinical diagnosis.

Key words: Klinefelter syndrome, infertility, medical genetic counseling, diagnosis, karyotype.

Резюме. Клинико-цитогенетический полиморфизм в мужском бесплодии, вызванный синдромом Клайнфельтера.

Цель этой статьи - изучить особенности клинического и цитогенетического полиморфизма в мужском бесплодии, вызванные синдромом Клайнфельтера для ранней диагностики, начиная с самых ранних периодов онтогенетического развития и инициирование мер по улучшению фертильности при синдроме Клайнфельтера. Группа из 58 пациентов с синдромом Клайнфельтера исследовалась цитогенетически в Центре Репродуктивного Здоровья и Медицинской Генетики, Института Матери и Ребенка. Медико-генетическое консультирование на раннем этапе онтогенетического развития и цитогенетическое обследование (кариотипирование) необходимо для лучшего исследования пациентов, подозреваемых в синдроме Клайнфельтера, для подтверждения клинического диагноза.

Ключевые слова: синдром Клайнфельтера, бесплодие, медико-генетическое консультирование, диагностика, кариотип

Introducere

La nivel mondial aproximativ 15% dintre cuplurile de vârstă reproductivă se confruntă cu probleme legate de sterilitate și infertilitate [1,2]. În ultimii ani, a existat convingerea că infertilitatea este doar de etiologie feminină, datele actuale din literatură demonstrează că factorii masculini contribuie la aproximativ jumătate din cazurile de infertilitate [2].

Infertilitatea masculină prezintă o etiologie heterogenă, cel mai frecvent fiind cauzată de tulburările de spermatogeneză, clinic manifestată prin azoospermie și oligospermie severă. În aproximativ 30% dintre cazurile de infertilitate masculină asociate cu azoospermie și oligozoospermie severă poate fi depistată o cauză genetică [3], sindromul Klinefelter fiind una din cele mai comune cauze genetice asociate cu azoospermie non-obstructivă și oligospermie severă. Frecvența sindromului Klinefelter este de 1:500 până la 1:1000 bărbați (Genetics Home Reference) și în rândul pacienților infertili de 5-10% dintre azoospermici și 2-5% din bărbații oligozoospermici au raportat acest sindrom [4].

Sindromul Klinefelter este o anomalie cromozomială gonozomală cauzată de prezența unui sau mai multor cromozomi X suplimentari, de obicei, dobândiți prin non-disjuncție în timpul gametogenezei materne sau paterne [5]. Pentru prima dată a fost descris de Harry Klinefelter în 1942 ca o afecțiune caracteri-

zată prin ginecomastie, hipogonadism hipergonadotrop și infertilitate datorată azoospermiei, dar cu variații semnificative în fenotip [6,7].

Sindromul Klinefelter fiind și principala cauză genetică a azoospermiei astfel sterilitatea din sindromul Klinefelter este primară și definitivă și doar rareori la pacienții cu mozaic cromozomial fertilitatea este păstrată, existând posibilitatea apariției descendenților. În ultimii 10 ani, cunoștințele despre șansele de fertilitate ale pacienților cu sindrom Klinefelter s-au schimbat considerabil, în special în ceea ce privește posibilitatea tratamentului IVF și ICSI (fertilizare *in vitro* și injectare intracitoplasmatică de spermatozoizi) [8].

Odată cu apariția extragerii microchirurgicale de spermă (microTESE), șansele de recuperare a spermatozoizilor la pacienții cu sindromul Klinefelter sunt de 30%, 50% și 70%, oferind posibilitatea ca bărbații Klinefelter să devină tați datorită utilizării IVF cu ICSI [7]. Vârsta este principalul factor de prognostic pentru TESE, procentul de TESE pozitiv este mai mare la bărbații mai tineri [9]. Astfel, la începutul pubertății ar putea exista un interval de timp în care spermatozoizii ar putea fi detectați în ejaculat sau dacă nu cel puțin în țesutul testicular. Astfel, este important să se țină seama de aceste cunoștințe pentru o consiliere cuprinzătoare începând de la vârsta de 15 ani, pacienții cu Klinefelter ar trebui abordați pen-

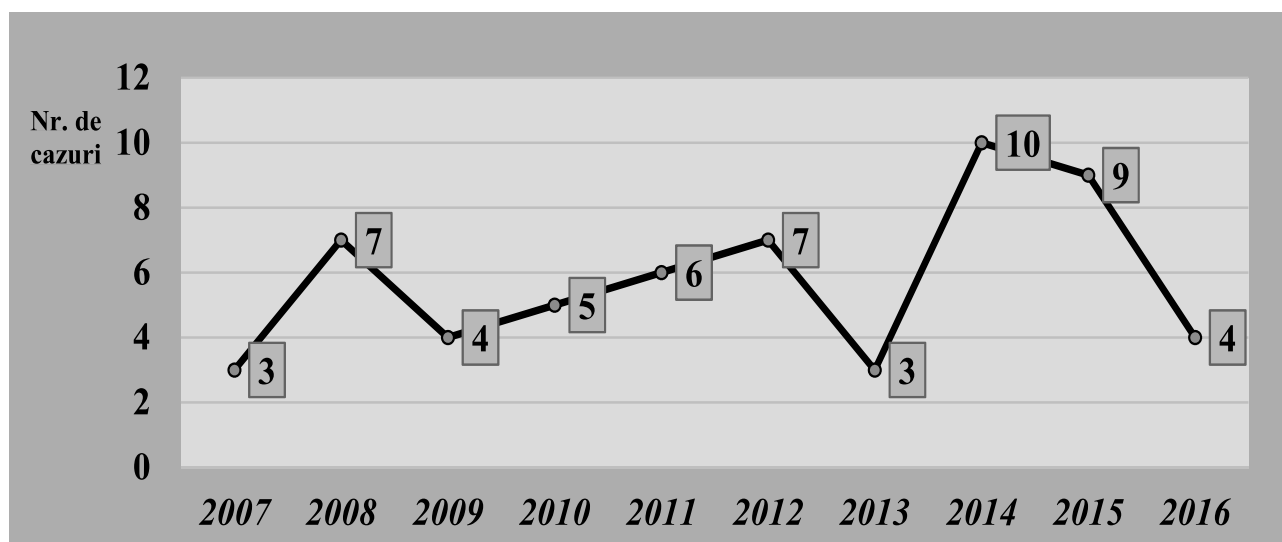


Fig. 1. Distribuția cazurilor de sindrom Klinefelter diagnosticate în laboratorul citogenetic al CSRGM în anii 2007 - 2016

tru efectuarea unui TESE urmată de crioconservarea spermatozoizilor extrași [8,9]. În literatura de specialitate, au fost raportate un total de 133 de nașteri ale copiilor de la tați Klinefelter. Această procedură specifică timpuriu ar putea conduce la o mai bună acceptare a diagnosticului lor și astfel ar oferi posibilitatea de a fi curabilă infertilitatea [9].

Scopul actualei lucrări este de a studia particularitățile polimorfismului clinic și citogenetic în infertilitatea masculină cauzată de sindromul Klinefelter, pentru diagnosticarea precoce începând cu cele mai timpurii perioade de dezvoltare ontogenetică și inițierea unor măsuri de ameliorare a fertilității în sindromul Klinefelter.

În vederea atingerii scopului menționat au fost formulate următoarele obiective:

1. Analiza polimorfismelor cromozomiale în sindromul Klinefelter la populația Republicii Moldova pe parcursul anilor 2007-2016;
2. Studiarea particularităților fenotipice în diferite perioade ontogenetice de dezvoltare, prepubertară, pubertară și postpubertară;
3. Inițierea unor măsuri de ameliorare a infertilității cauzată de sindromul Klinefelter în cadrul consultului medico-genetic.

Material și metode. Cercetarea a fost realizată pe baza unui studiu descriptiv din analiza retrospectivă și prospectivă a pacienților diagnosticați cu sindromul Klinefelter din populația Republicii Moldova pe parcursul anilor 2007-2016, de la Centrul Național de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală (CNS-RGM), IMSP Institutul Mamei și Copilului. Confirmarea diagnosticului s-a realizat în baza examenului citogenetic, tehnica clasică de marcaj G; au fost analizate preparate cromozomiale de metafază ale lim-

focitelor sângelui periferic, 15 metafaze dintre care 5 au fost cariotipate. În vederea raportării rezultatelor a fost utilizată nomenclatura conform ISCN 2016 (*International System of Cytogenetic Nomenclature*).

Rezultate și discuții. Analiza eșantionului de 133 pacienți de sex masculin cu elemente clinice sugestive pentru sindromul Klinefelter s-a bazat pe prezența diferitor manifestări clinice, precum: dismorfisme craniofaciale, hernie inghinală, retard în dezvoltare, anomalii de dezvoltare ale organelor genitale externe – hipospadias peno-scrotal, micropenis, testiculi mici, care sugerau o disgenezie gonadică, criptorhidism, ginecomastie, întârziere pubertară, talie înaltă și disproporțională, infertilitate, azoospermie și oligospermie severă.

Pentru confirmarea diagnosticului definitiv s-a efectuat analiza citogenetică pentru aprecierea cariotipului și forme citogenetice a sindromului Klinefelter. Pe parcursul perioadei 2007-2016 în cadrul consultului medico-genetic de la Institutul Mamei și Copilului au fost diagnosticate 58 de cazuri cu sindromul Klinefelter, cele mai multe cazuri fiind diagnosticate în anul 2014 – 10 cazuri și 2015 – 9 cazuri, urmând 2007 și 2008 câte 7 cazuri, în 2009 și 2016 – 4 cazuri, în 2007 și 2013 câte 3 cazuri. Cazurile diagnosticate nu reflectă pe deplin frecvența reală a sindromului Klinefelter în populație, deoarece multe cazuri nu sunt diagnosticate, cauzele fiind multiple. O cauză fiind diversitatea polimorfismului fenotipic, lipsa adresării pacienților la medic, lipsa îndreptării pacienților de către medici la consultul medicului genetician.

Datele din literatură privind diversitatea formelor citogenetice denotă că cea mai frecventă anomalie cromozomială diagnosticată la pacienții cu sindromul

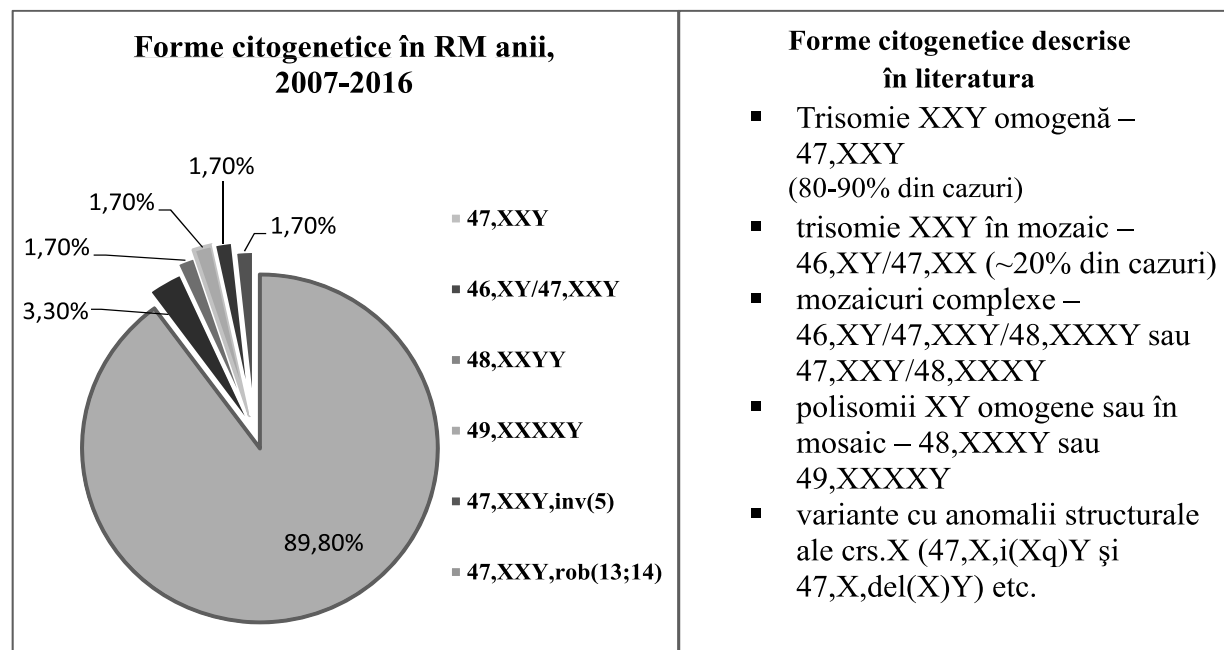


Fig. 2. Diversitatea formelor citogenetice ale sindromului Klinefelter diagnosticate în laboratorul citogenetic al CS-RGM

Klinefelter este trisomia liberă omogenă 47,XXY în 80-90%, urmând forma mozaică până la 20%, restul formelor se întâlnesc rar.

Rezultatele studiului obținute în urma cariotipării confirmă datele din literatură, astfel fiind diagnosticată forma clasică 47,XXY în 89,8%, urmată de formele: mozaică 47,XXY/46,XY:– 3,3%, polisomiile X-Y (variante 48,XXYY – 1,7% și pentasomia – 49,XXXXY: – 1,7%) și variantele cu anomalii structurale ale cromozomilor autozomi (47,XXY,inv(5): – 1,7%) și cea asociată cu translocatie robertsoniană (47, XXXY, rob (13:14): – 1,7%) [9].

Sindromul Klinefelter prezintă heterogenitate atât citogenetică, cât și fenotipică. Semnele și apariția simptomelor depind și de vârsta pacienților. În plus, fenotipul tinde să se înrăutățească cu vârsta înaintată. Studiarea particularităților fenotipice în diferite perioade ontogenetice de dezvoltare, prepubertară, pubertară permit identificarea semnelor sugestive pentru diagnosticarea sindromului Klinefelter.

Doar un procentaj mic al fetoșilor cu sindromul Klinefeltersunt diagnosticați prenatal, diagnosticarea fiind posibilă doar după examenul citogenetic al cariotipului fetal în urma amniocentezei datorită vârstei avansate a mamei. Până în prezent, semne ecografice sau markeri serici nu sunt sugestivi pentru sindromul Klinefelter, ceea ce înseamnă că nu există un mod eficient de a examina populația prenatal, în afară de analiza cariotipului.

În copilărie sindromul Klinefelter poate fi suspectat datorită taliei înalte, aspectului gracil, prezen-

ței micropenisului, întârzierii vorbirii, dificultății de adaptare și de învățare la școală. Copiii cu cariotipul 47,XXY pot prezenta un hipogonadism, iar reducerea creșterii penisului în copilăria timpurie poate indica deficitul de androgeni.

La începutul pubertății la băieții cu sindromul Klinefelter, testiculele cresc inițial la aproximativ 4 ml în volum și după aceea se micșorează la dimensiunea patologică a adulților mai mică de 4 ml [10,11]. Nivelurile de FSH, LH și testosteron sunt în normă în timpul perioadei prepubertare la băieții cu sindromul Klinefelter, dar prezintă o creștere a FSH și LH și o scădere a testosteronului după debutul pubertății [12]. Diagnosticarea sindromului în această perioadă este importantă pentru conservarea fertilității și inițierea înlocuirii de androgeni. Deoarece la începutul pubertății există posibilitatea recuperării spermatozoizilor din ejaculat sau din țesutul testicular prin TESE. În etapa intermediară de pubertate apar modificări progresive tubulare, cum ar fi apoptoza celulelor germinative și scleroza, de asemenea hialinizarea tubilor seminiferi [13].

În perioada postpubertară principalele semne clinice ale sindromului Klinefelter în forma sa clasică sunt infertilitate, hipogonadism hipergonadotrofic și ginecomastie. Înlocuirea celulelor testiculare cu țesut fibros, determină absența secreției de testosteron, azoospermie, hipoplazie testiculară. Azoospermia în sindromul Klinefelter este consecința degenerării celulelor germinale progresive începând de la mijlocul pubertății, perioadă critică în care funcționează

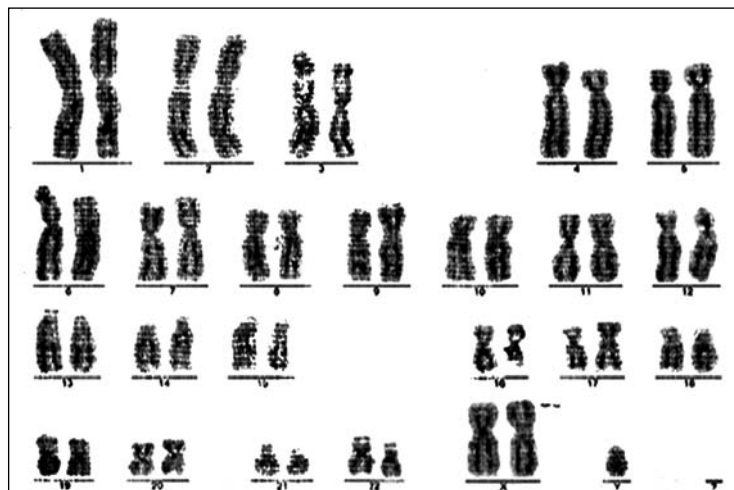


Fig. 3. Cariotip, sindrom Klinefelter forma clasica 47,XXY la pacient de 29 de ani cu azoospermie, diagnosticat în laboratorul citogenetic al CSRGM, anul 2015

și celulele Sertoli în asociere cu o fibroză extensivă și hialinizarea tubilor seminiferi și a hiperplaziei interstițiului și celulele Leydig, cauza infertilității fiind motivul principal al adresării pacienților la clinicele de reproducere asistată. Cele mai multe cazuri sunt diagnosticate postpubertar datorită azoospermiei și infertilității.

Consilierea pacienților în cadrul consultului medico-genetic pentru păstrarea fertilității depinde în mare parte de vârsta la care se diagnostică sindromul Klinefelter. În copilărie părinții sunt consiliați pentru inițierea tratamentului de substituție cu androgeni înaintea apariției simptomelor de hipogonadism. La începutul pubertății pacienții trebuie consiliați pentru posibilitatea efectuării microdisecției microchirurgicale de extracție a spermei testiculare (TESE) din materialul seminal care conține un număr redus de spermatozoizi. La diagnosticarea sindromului în timpul pubertății, bărbații care formează un cuplu și doresc să conceapă un copil le pot fi prezentate următoarele opțiuni: adopția; înseminarea artificială cu material seminal donator, ICSI cu spermatozoizi.

Concluzie. Pacienții cu sindromul Klinefelter pot beneficia de diagnostic precoce, datorită manifestărilor cheie din diferite perioade ontogenetice de dezvoltare. Astfel, pacienții pot avea șansa să primească tratamentul precoce pentru îmbunătățirea calității vieții. Inclusiv prevenirea infertilității, dacă este posibil, prin crioconservare de țesut testicular la pubertate precoce înainte de debutul azoospermiei.

Bibliografie

1. Azimi C., Khaleghian M., Farzanfar F. A retrospective chromosome studies among Iranian infertile women: Report of 21 years. Iran J Reprod Med., 2013, 11(4), pp. 315-324.
2. Rahma Belmokhtar, Fayza Belmokhtar and Ah-

med Kerfouf. Male Infertility and Cytogenetic Disorders: A Cross-Sectional Study. Journal Medicine Science, 2016. DOI: 10.3923/jms.2016.38.43

3. Reproductive BioMedicine Online, 2007, 14(6), pp. 734-745. www.rbmonline.com/Article/2782 on web 18 April 2007

4. Eisa Tahmasbpour, Dheepa Balasubramanian, Ashok Agarwal. A multi-faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 2014.

5. Covic M., Ștefănescu D., Sandovici I. Genetica Medicală, Iași, 2011, ed. II.

6. Tuttelmann I. F., Gromoll J. Novel genetic aspects of Klinefelter's syndrome. Molecular Human Reproduction, 2010, 16(6), pp. 386-395.

7. Diemer T., Desardins C. Development and genetic disorder in spermatogenesis. Human Reproduction, 5(2), pp. 120-140.

8. Aurélie Brosse, Groupe Fertipreserve, Ingrid Plotton. Fertilité dans le syndrome de Klinefelter. La presse Médicale, 2014, vol. 43, Issue 2, pp. 162-170.

9. Sprincean M., Halabudenco E., Samoilenco T., Mișina A. Aspects of the early neurogenetic diagnostics of Klinefelter syndrome. European Journal of Human Genetics, 2014, vol. 22, suppl. 1, p. 453.

10. Ratcliffe S. G. The sexual development of boys with the chromosome constitution 47,XXY (Klinefelter's syndrome). Clin Endocrinol Metab, 1982, 11, pp. 703-716.

11. Salbenblatt J. A. et al. Pituitary-gonadal function in Klinefelter syndrome before and during puberty. Pediatr Res, 1985, 19, pp. 82-86.

12. Radicioni A. F., De Marco E., Gianfrilli D., Grato S., Gandini L., Isidori A. M., Lenzi A. Strategies and advantages of early diagnosis in Klinefelter's syndrome. Molecular Human Reproduction, 2010, 16(6), pp. 434-440.

13. Bojesen A., Juul S., Højbjerg Gravholt C. Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: a national registry study. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88, pp. 622-626.