

## Il sesso cromosomico nella distrofia miotonica

Emilio Ramelli

Accanto al sesso apparente, che consiste nell'insieme dei caratteri sessuali obiettivamente apprezzabili, ed al sesso gonadico, legato alla presenza di testicoli o di ovaie, esiste anche un sesso cromosomico condizionato dalla presenza di cromosomi sessuali XX e XY, caratteristico, nella specie umana, rispettivamente del sesso femminile e del sesso maschile.

Questa differenza del corredo cromosomico sessuale, che dallo zigote si trasmette a tutte le cellule somatiche, comporta una differenza strutturale tra nuclei maschili e femminili così che dall'esame di strisci e di tessuti è possibile determinare il sesso cromosomico dell'individuo da cui questi provengono.

Questa diversità tra i due sessi della struttura nucleare consiste nella maggior evidenza nei nuclei femminili rispetto ai maschili di una particolare masserella cromatinica ben distinguibile per le sue caratteristiche morfologiche dagli altri cromocentri (masserelle di cromatina intensamente colorabili nel nucleo a riposo).

Detta formazione viene indicata col termine di cromatina sessuale o cromatina di Barr dal nome dell'autore che per primo l'osservò.

Barr e Bertram nel 1949, nel corso di una ricerca sulle cellule nervose del nucleo d'origine dell'ipoglosso nei gatti, notarono nel 30-40% dei nuclei provenienti dagli animali di sesso femminile la presenza di un cromocentro di circa 1 di diametro per lo più addossato al nucleo.

Dopo questa prima osservazione, quasi causale, la cromatina sessuale è stata ricercata sistematicamente in altre sedi del sistema nervoso del gatto (corteccia motrice, cellule del Purkinje ecc.) come pure del *Macacus Rhesus*, del cane e di molti altri mammiferi. In tutti questi animali la cromatina sessuale fu trovata in altri tessuti oltre che in quello nervoso (epidermide, tessuto muscolare, ghiandole endocrine, epiteli mucosi, ecc.); anche in questi tessuti essa è presente dalla metà ai due terzi dei nuclei femminili ed in circa il 5% di quelli maschili.

Per quanto riguarda il comportamento della cromatina sessuale nei tessuti umani la prima ricerca fu quella di Barr e coll. (1950) condotta su cellule del sistema nervoso centrale, ma la osservazione più importante sui tessuti umani, quella che ha suggerito un metodo pratico per la determinazione del sesso cromosomico dell'uomo, è quella di Moore-Graham e Barr (1953), i quali riscontrarono un chiaro dimorfismo sessuale nei nuclei chiari dello stato spinoso mentre in quelli degli altri strati

della cute la differenza tra i due sessi è meno visibile. È da questa osservazione che è derivata la prima applicazione pratica, cioè la possibilità di determinare il sesso cromosomico dell'uomo dall'esame della struttura nucleare in piccoli prelievi di cute. In seguito la ricerca fu estesa con buoni risultati su strisci ottenuti da superfici mucose (strisci vaginali, strisci di mucosa orale, ecc.).

Nel 1954 Davidson e Smith suggerirono un nuovo procedimento per determinare il sesso cromosomico dell'uomo: tali AA. osservarono in una bassa percentuale di granulociti segmentati di soggetti femmine la presenza di una formazione cromatinica non reperibile nel sesso maschile alla quale Davidson e Smith attribuirono lo stesso significato della cromatina di Barr. Da qui la possibilità di determinare il sesso cromosomico dall'esame di strisci di sangue colorati con il metodo di May-Grunwald-Giemsa. Questo cromocentro ha la forma di una bacchetta di tamburo (drum-stick) essendo costituito da una masserella sferica di 1,5 di diametro unita per mezzo di un sottile peduncolo con uno dei lobi del nucleo o col ponte cromatinico che unisce due di essi. L'incidenza di questa formazione nei granulociti femminili è molto bassa, in media di 1%, cosicchè è necessario esaminare diverse centinaia di granulociti segmentati per poterne trovare un certo numero; però dato che questi cromocentri sono del tutto assenti nel sesso maschile basta trovarne uno solo per fare diagnosi di sesso.

Bisogna però ricordare che il riconoscimento di un drum-stick è molto delicato in quanto esistono nei granulociti segmentati di entrambi i sessi altre formazioni abbastanza simili che vanno tenute distinte dalle bacchette di tamburo. La determinazione del sesso cromosomico sullo stato spinoso della cute resta pertanto il metodo più certo e sicuro.

La cromatina di Barr rappresenterebbe nel nucleo a riposo l'eterocromatina dei cromosomi sessuali e soprattutto del cromosoma X.

Come è noto nel nucleo intercinetico, cioè nella fase che intercorre tra due divisioni mitotiche, i cromosomi perdono la loro individualità morfologica ma parte di essi restano visibili come granuli intensamente colorabili costituendo i cosiddetti cromocentri. Le zone da cui derivano i cromocentri sono le eterocromatiche dei cromosomi, tali zone mantengono nel nucleo a riposo un'alta concentrazione di acidi nucleinici apparendo quindi corpuscoli intensamente colorabili.

I cromosomi sessuali presentano questa proprietà in modo particolarmente evidente soprattutto il cromosoma X che essendo da due o tre volte più grande della Y è molto più ricco di eterocromatina. Ne risulta che nei mammiferi, in cui il sesso femminile è omozigote per il cromosoma X (XX) mentre il maschile è eterozigote (XY), l'eterocromatina dei cromosomi sessuali sarà in quantità superiore nei nuclei femminili rispetto ai maschili e formerà quindi nei primi cromocentri di dimensione notevolmente superiore.

La cromatina di Barr, quale appare nei nuclei femminili, corrisponderebbe quindi alla fusione delle porzioni eterocromatiche dei due cromosomi X. Questo rapporto tra eterocromatina dei cromosomi sessuali e cromocentro di Barr sembra provato

anche dal fatto che in animali in cui non c'è una evidente differenza dimensionale tra cromosoma X e Y non si nota neppure una chiara differenza nella struttura del nucleo. Per quanto riguarda la constatazione che la cromatina sessuale è visibile solo in una parte dei nuclei femminili posso dire che questo si spiega facilmente col fatto che essa è di dimensioni relativamente piccole in rapporto a quelle del nucleo in cui è contenuta e perciò la probabilità che la sezione cada su di lei non può essere totale ma è inversamente proporzionale alle dimensioni del nucleo.

La possibilità di determinare il sesso cromosomico è molto importante perchè mentre per lo più questo coincide con quello gonadico, in particolari condizioni non corrisponde a quello apparente (sindrome di Turner, sindrome di Klinefelter). Nella sindrome di Turner lo studio della cromatina di Barr ha messo in evidenza, nella maggioranza dei casi, una costituzione cromosomica maschile in contrasto con il complesso somatico che appare femminile (D'Onghia-Caraceni).

Bradbury-Bunge-Boccabella (1956); Plunkett-Barr (1956); Riis-Johansen-Mosbech (1956); Jackson-Shapiro-Uys-Hoffenberg (1956); Grumbach-Engle-Blanc-Barr (1956); Grumbach-Blanc-Engle (1957); Holub-Grumbach-Jailer (1958) osservarono, in quasi la totalità dei soggetti affetti dalla sindrome di Klinefelter da loro studiati, la presenza della cromatina di Barr.

Questa sindrome è caratterizzata da atrofia del parenchima testicolare di tipo primario e non infiammatorio, ginecomastia, diminuzione dei 17 CHT urinari ed aumento delle gonadostimoline.

Tra le varie malattie nelle quali è presente una compromissione della funzione sessuale vi è la distrofia miotonica; in questa accanto alle tipiche alterazioni muscolari si osserva pure, nei malati di sesso maschile, una atrofia delle gonadi ed una conseguente deficienza della funzione sessuale. Le alterazioni dei testicoli presentate dai soggetti colpiti da distrofia miotonica hanno una grande somiglianza con quella della sindrome di Klinefelter cosicchè da molti AA. si è voluto sottolineare una affinità tra le due sindromi. Infatti il quadro istologico dei testicoli dei soggetti colpiti da distrofia miotonica come quello della sindrome di Klinefelter è quello di una atrofia di tipo primario non infiammatorio. In tutte e due le sindromi i tubuli appaiono sclerotici, non si osservano segni di flogosi e le cellule del Leydig appaiono ben conservate. Lo stato delle cellule del Leydig differenzia, come è noto, le atrofie primarie da quelle secondarie ad insufficienza ipofisaria nelle quali sono invece compromesse.

Accanto alle affinità osservate nelle due forme non mancano però alcune differenze sia di ordine clinico sia di ordine endocrino. Infatti oltre l'ovvia considerazione che nella K. S. non si osservano i segni di distrofia muscolare ed i fenomeni miotonici della D. M., si deve sottolineare che uno dei segni costanti della K. S., quale la ginecomastia, è assai raro nella D. M. Anche l'aumento della gonadostimoline urinarie che si osserva sempre nella K. S. non è affatto costante nella D. M. ove invece accanto a casi con gonadostimoline aumentate se ne osservano altri con valori normali o diminuiti (Ramelli-Taraschi).

---

Non mancano neppure AA. che hanno voluto sottolineare l'esistenza di alcune particolarità nei quadri istologici delle due forme.

Così, secondo Nelson, nella K. S. si osserverebbero tubuli sclerotizzati di « piccole dimensioni » mentre nella D. M. i tubuli sclerotizzati sarebbero di dimensioni maggiori in quanto, secondo tale Autore, la lesione dell'apparato tubulare avverrebbe in età più avanzata.

Roos nega però le osservazioni di Nelson e sostiene invece che le dimensioni dei tubuli sono legate a variazioni individuali.

Mertens e Nowakowski sono dell'avviso che l'unica differenza dal punto di vista istologico, tra le due sindromi sta nel fatto che nella D. M. i territori atrofici dei testicoli sono distribuiti molto irregolarmente tra il parenchima ancora integro mentre nella K. S. le zone atrofiche hanno una ripartizione regolare. Anche Ramelli e Taraschi hanno osservato, nei casi di D. M. da loro studiati, che le zone colpite appaiono distribuite molto irregolarmente tra il parenchima ancora inalterato.

Nonostante queste diversità le affinità tra la K. S. e la D. M. per quello che riguarda le gonadi e la funzione sessuale, sono molto grandi e perciò è nata la curiosità di vedere se anche nei distrofici miotonici il sesso cromosomico fosse femminile.

Le ricerche sulla cromatina di Barr nella D. M. a tutt'oggi è stata condotta su un numero limitato di soggetti ed i risultati non sono stati completamente concordanti. Infatti, mentre Grumbach, Blanc e Engle (1957) in un caso di D. M. osservarono un contrasto tra il sesso gonadico (maschile) e quello cromosomico (femminile), Bunge e Bradbury (1956) in due casi, Roos (1957) in un caso, Siebenmann (1957) in quattro casi, Marshall e Thomas (1958) in 14 maschi ed in 5 donne, Kuhn e Hienz (1959) in otto maschi ed in una donna, trovarono una concordanza tra il sesso gonadico e quello cromosomico.

Sono perciò dell'avviso che per poter dare un giudizio definito sul sesso cromosomico dei soggetti maschi colpiti da D. M., per poter cioè stabilire se il reperto di Grumbach-Blanc-Engle sia una osservazione occasionale ed esista una effettiva concordanza tra sesso genetico e quello gonadico o per poter invece sostenere che nei maschi colpiti da questa malattia si possa talvolta osservare un sesso genetico femminile, si debba estendere la ricerca della cromatina di Barr ad un numero molto maggiore di soggetti miotonici.

### Osservazioni personali

In questi ultimi tempi ho avuto modo di seguire due famiglie colpite da distrofia miotonica come pure ho seguito due malati che presentavano la medesima affezione ma che appartenevano a famiglie completamente sane.

Ho perciò ritenuto opportuno ricercare la cromatina di Barr in questi soggetti per vedere se potevo osservare in certi casi una discordanza tra il sesso gonadico e quello cromosomico, come fu dimostrato da Grumbach-Blanc-Engle in un caso, o per confermare invece su un nuovo gruppo di malati le conclusioni della maggior

parte degli AA. La ricerca è stata condotta su sei soggetti affetti da distrofia miotonica, tutti maschi, in età compresa tra i 19 ed i 38 anni.

In essi il sesso gonadico era evidente anche se poco sviluppato, nel soggetto N. 5 era presente pure una modica ginecomastia. Cinque malati erano scapoli ed interrogati sulla loro attività sessuale avevano chiaramente ammesso di non essere mai riusciti ad avere rapporti con l'altro sesso; il più giovane specialmente era molto addolorato della sua impotenza. L'unico che aveva contratto matrimonio ammise di averlo fatto spinto solo da necessità economiche.

In due di questi soggetti è stata praticata la biopsia testicolare ed il reperto istologico fu quello tipico di una lesione primaria senza segni di flogosi e non presentò significative differenze rispetto ai quadri istologici tipici della sindrome di Klinefelter.<sup>1</sup>

La mia ricerca è stata eseguita su prelievi cutanei colorati con il metodo di Feulgen con il quale si ottiene una colorazione chiara del nucleo ed i cromocentri spiccano evidenti su di uno sfondo incolore.

	sexso cromosomico	sexso gonadico	concordanza
BT. M.	♂	♂	si
BR. G.	♂	♂	si
BR. A	♂	♂	si
T. G	♂	♂	si
MZ. C	♂	♂	si
MR. P	♂	♂	si

Come appare dalla tabella più sopra riportata non ha mai osservato alcuna discordanza tra sesso gonadico e sesso cromosomico.

### Conclusioni

Le osservazioni da me fatte sul sesso cromosomico nei malati di D. M. sono dunque in accordo con quelle già descritte in questi ultimi due anni e confermano la concordanza tra sesso genetico e sesso gonadico in tali soggetti. Il rilievo della concordanza tra sesso cromosomico e sesso gonadico osservato nella distrofia miotonica permette di sostenere che l'atrofia testicolare osservata in questa affezione riconosce una patogenesi diversa da quella prospettata per la sindrome di Klinefelter. Come è noto infatti le conoscenze attuali fanno ritenere che nei soggetti che presentano la sindrome di Klinefelter si avrebbe una differenziazione come testicolo di una gonade

<sup>1</sup> Il reperto istologico delle gonadi di questi due malati è già stato pubblicato con altri dati di endocrinologia da Ramelli e Taraschi in un lavoro in corso di pubblicazione.

costituzionalmente destinata a diventare ovaio, che a sua volta, con azione ormonale, orienterebbe in senso maschile lo sviluppo dei dotti genitali e dei genitali esterni.

La mancanza della cromatina di Barr nelle cellule dello strato spinoso della cute di soggetti maschi colpiti da distrofia miotonica fa invece escludere una simile patogenesi per l'atrofia testicolare osservata in questi soggetti.

La ricerca del sesso cromosomico nella D. M. ha dunque messo in luce un nuovo elemento che differenzia l'ipogonadismo di questa sindrome da quello della sindrome di Klinefelter e che si aggiunge a quelli di ordine clinico ed endocrinologico già noti.

### Riassunto

L'A. ha ricercato la cromatina di Barr in 6 soggetti maschi affetti da distrofia ed ha trovato una concordanza tra sesso cromosomico e sesso gonadico.

### Bibliografia

- BARR M. L., BERTRAM E. G.: *Nature*, 163, 676, 1949.  
BARR M. L., BERTRAM L. F., LINDSAY H. A.: *Anat. Rec.*, 107, 283, 1950.  
BERTRAM E. G., BERTRAM L. F., LINDSAY H. A.: *Anat. Rec.*, 106, 229, 1950.  
BRADBURY J. T., BUNGE R. G., BOCCABELLA R. A.: *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 16, 689, 1956.  
BUNGE R. C., BRADBURY J. T.: *J. Urol. (Baltimore)*, 76, 758, 1956.  
DAVIDSON W. M., SMITH D. R.: *Brit. Med. J.*, 2, 6, 1954.  
D'ONGHIA N., CARACENI T.: *Minerva Medica*, XLVII, 13, 496, 1957.  
GRUMBACH M. M., ENGLE E. T., BLANC W. A., BARR M. L.: *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 16, 923, 1956.  
GRUMBACH M. M., BLANC W. A., ENGLE E. T.: *J. Clin. Endocrin. Metabol.*, 17, 703, 1957.  
HOLUB D. A., GRUMBACH M. M., FAILER F. W.: *J. Clin. Endocrin. Metabol.*, 1359, 18, 1958.  
HORBERGER E., BOCCABELLA R. M., NELSON W. O.: *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 89, 488, 1955.  
JACKSON W. P., SHAPIRO B. G., UYS C. G., HOFFENBERG R.: *Lancet*, 2, 969, 1956.  
— — — — *Lancet*, 4, 857, 1956.  
KUHN E., HIENZE H.: *Klin. Wschr.*, 1. aprile 1959, pag. 403.  
MARSCHALL, THOMAS: *Lancet*, 1209, 2, 1958.  
MERTENS M. G., NOWAKOWSKI M.: *Dtsch. Zentr. Nervenheilk.*, 172, 128, 1954.  
MOORE K. L., GRAHAM M. A., BARR M. L.: *Surg. Gynec. Obst.*, 96, 641, 1953.  
MOORE K. L., BARR M. L.: *Acta Anat.*, 21, 197, 1954.  
MOORE K. L., BARR M. A.: *Lancet*, 2, 57, 1955.  
NELSON W. O.: *Acta Endocrin.*, 23, 227, 1956.  
PLUNKETT E., BARR M. L.: *Lancet*, 853, 1956.  
RAMELLI E., TARAKSCHI G.: (*in corso di pubblicazione*).  
RIIS P., JOHENSEN S. G., MOSBECH J.: *Lancet*, 2, 962, 1956.  
ROOS B.: *Sweiz. Med. Wschr.*, 87, 672, 1957.  
SIEBENMANN R. E.: *Schweiz. Med. Wschr.*, 85, 302, 1957.

RÉSUMÉ

L'Auteur a recherché la chromatine de Barr en 6 sujets masculins malades de dystrophie myotonique et a trouvé une concordance entre le sexe chromosomique et le sexe gonadique.

SUMMARY

The Author carried out tests for Barr's chromatine in 6 male subjects suffering from dystrophia myotonica and found concordance between chromosomal and gonadal sex.

ZUSAMMENFASSUNG

Autor hat bei sechs von myotonischer Dystrophie betroffenen männlichen Patienten nach dem Chromatin von Barr geforscht und hat Übereinstimmung zwischen Geschlecht der Chromosomen und dem der Gonaden gefunden.