

INDICE

| | |
|---|----|
| CAPITOLO 1 | 3 |
| ANATOMIA E FISIOLOGIA DELLE VIE GENITALI | 3 |
| I testicoli | 4 |
| Le vie spermatiche | 7 |
| L'epididimo | 7 |
| Il condotto deferente..... | 8 |
| I condotti eiaculatori | 8 |
| L'uretra..... | 8 |
| Il funicolo spermatico | 10 |
| Le ghiandole annesse alle vie spermatiche | 11 |
| Le vescichette seminali | 11 |
| La prostata | 11 |
| Le ghiandole bulbouretrali | 12 |
| I genitali esterni | 13 |
| Gli spermatozoi | 16 |
| Lo sperma | 16 |
| L'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi | 17 |
| Patologie dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi | 20 |
| CAPITOLO 2 | 21 |
| L'INFERTILITÀ | 21 |
| Infertilità maschile | 21 |
| Cause pre-testicolari | 22 |
| Cause testicolari..... | 23 |
| Cause post-testicolari..... | 24 |
| Percorso diagnostico dell'infertilità maschile | 26 |
| Anamnesi ed esame obiettivo | 26 |
| Esami di laboratorio..... | 27 |
| Esami strumentali..... | 31 |
| Screening genetico | 32 |
| Citologia testicolare | 32 |
| TRATTAMENTO | 33 |
| Terapia medica | 33 |

| | |
|--|-----------|
| Terapie chirurgiche | 34 |
| CAPITOLO 3 | 36 |
| IL VARICOCELE | 36 |
| Definizione ed epidemiologia..... | 36 |
| Eziologia..... | 36 |
| Fisiopatologia | 37 |
| Diagnosi e classificazione..... | 37 |
| Indicazioni al trattamento..... | 39 |
| Opzioni terapeutiche | 39 |
| Outcomes | 40 |
| CAPITOLO 4 - PARTE SPERIMENTALE | 41 |
| INTRODUZIONE | 41 |
| MATERIALI E METODI | 44 |
| Pazienti | 44 |
| Scopo dello studio..... | 44 |
| Disegno dello studio..... | 45 |
| Analisi statistica dei dati | 45 |
| RISULTATI..... | 46 |
| DISCUSSIONE | 55 |
| CONCLUSIONI..... | 56 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 57 |

CAPITOLO 1

ANATOMIA E FISIOLOGIA DELLE VIE GENITALI

L'apparato genitale maschile è costituito dai testicoli, dalle vie spermatiche, da alcune ghiandole annesse e dagli organi genitali esterni.

I testicoli (gonadi maschili) sono situati nella borsa scrotale, e svolgono due funzioni, una esocrina, la spermiogenesi, e una endocrina, che consiste nella sintesi di ormoni sessuali maschili.

Le vie spermatiche hanno inizio nel testicolo con i tubuli retti in cui sboccano i tubuli seminiferi. Continuano poi con la rete testis, l'epididimo, il condotto deferente, il condotto eiaculatore e infine l'uretra.

Le vie spermatiche, in particolare in alcuni tratti, non solo consentono il passaggio degli spermatozoi, ma ne determinano anche la maturazione ed inoltre modificano attivamente la composizione del contenuto luminale.

Le ghiandole annesse alle vie spermatiche sono rappresentate dalle vescichette seminali, dalla prostata e dalle ghiandole bulbouretrali di Cowper, e sono deputate alla produzione del liquido seminale, fondamentale per la motilità e la sopravvivenza degli spermatozoi.

Il liquido seminale insieme agli spermatozoi costituisce lo sperma.

I genitali esterni, invece, sono rappresentati dal pene e dalla borsa scrotale.

I testicoli

I testicoli sono organi pari e simmetrici di forma ellissoidale, appiattiti in senso trasversale, posti nella borsa scrotale, al di sotto del pene, e sono appesi all'estremità inferiore dei funicoli spermatici. I due testicoli sono estremamente mobili e sono separati dal setto scrotale. Le loro dimensioni sono generalmente di 4 x 3 x 2.5cm.

È possibile schematizzare la superficie del testicolo in due facce, due poli e due margini. La faccia mediale è rivolta al setto scrotale, la laterale è coperta posteriormente dall'epididimo. Il margine anteriore è convesso e rivolto verso il basso, il posteriore è ricoperto dall'epididimo che dà attacco al cordone spermatico. Nel margine posteriore abbiamo l'ilo del testicolo, attraverso il quale passano i condottini efferenti, vasi e nervi. Il polo superiore è rivestito dalla testa dell'epididimo, quello inferiore dà attacco al legamento scrotale, che fissa il testicolo alla borsa.

Il testicolo è contenuto in una cavità rivestita da membrana sierosa, definita tonaca vaginale propria, che è una dipendenza del peritoneo, dal quale si rende indipendente dopo la nascita.

La tonaca vaginale propria è costituita da un foglietto interno, epiorchio, che è adeso alla superficie del testicolo (tonaca albuginea) e da un foglietto esterno, periorchio, anche definito tonaca vaginale comune.

La cavità delimitata dai due foglietti (cavità vaginale) è virtuale, e diviene reale solo in condizioni patologiche con accumulo di liquido all'interno di questa (idrocele).

Il testicolo è costituito, dall'esterno all'interno dalla tonaca albuginea, dal parenchima, dallo stroma e dalle cellule interstiziali di Leydig.

La tonaca albuginea è una membrana fibrosa di spessore 0.5-1mm che avvolge il testicolo, dalla quale si staccano setti (setti testicolari) che suddividono il testicolo in 300 logge e che convergono verso il margine posteriore del testicolo, formando il mediastino (corpo di Highmore).

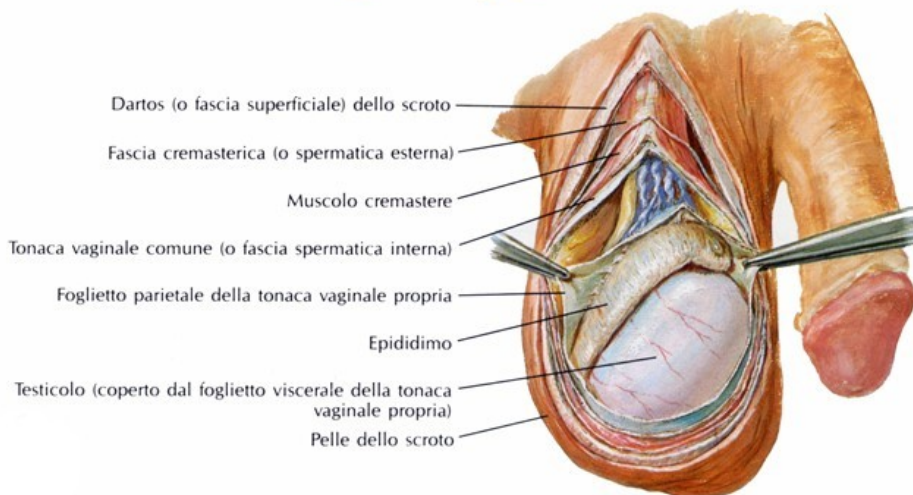
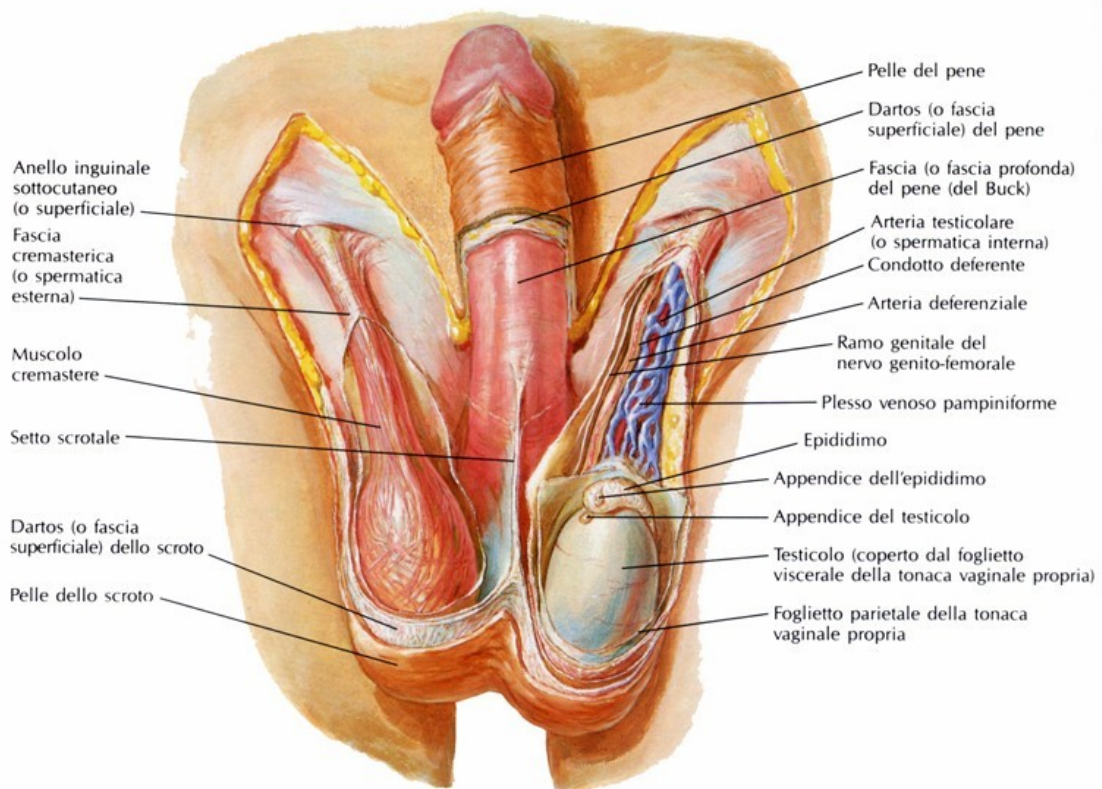
Il parenchima e lo stroma riempiono le logge, costituendo così i lobuli. I lobuli sono formati da 1 a 4 tubuli seminiferi, che sboccano nei tubuli retti e rete testis. I tubuli seminiferi sono delimitati da una lamina propria, internamente alla quale si ha

l'epitelio germinativo, nel quale si possono distinguere due tipi cellulari, le cellule di sostegno e le cellule germinali.

Le cellule di sostegno, dette cellule di Sertoli, sono responsabili, in risposta ai diversi stimoli ormonali, della produzione del fluido tubulare, nonché di alcune sostanze in esso contenute come le ABG (Androgen Binding Protein), la transferrina, proteasi e inibitori delle proteasi, fattori di crescita, metaboliti (lattati e piruvati) e fattori ormonali come l'inibina. Il mantenimento delle caratteristiche del fluido tubulare è garantito dalla barriera ematotesticolare, costituita dalle giunzioni serrate presenti tra le estroflessioni citoplasmatiche delle cellule del Sertoli. Le cellule germinali sono inframmezzate dalle cellule del Sertoli, sono disposte a strati, riconosciamo a contatto con la lamina basale gli elementi più indifferenziati, gli spermatogoni, che si dividono mitoticamente, poi si hanno procedendo verso la superficie dell'epitelio del tubulo seminifero, spermatociti e spermatidi, cellule che rappresentano tappe intermedie del processo di gametogenesi, per arrivare poi agli spermatozoi, liberi nel lume del tubulo seminifero. Lo stroma è costituito da tessuto connettivo lasso, circonda i tubuli seminiferi, contiene vasi capillari, linfatici e nervi e le cellule interstiziali di Leydig. Le cellule interstiziali di Leydig producono ormoni androgeni sotto lo stimolo della gonadotropina ipofisaria LH. Il testosterone, ivi prodotto, in parte raggiunge direttamente l'epitelio germinativo attraversando la lamina basale dei tubuli seminiferi, dove presenta concentrazioni molto elevate, in parte raggiunge l'intero organismo legato a carrier proteici. Gli ormoni androgeni sono fondamentali per la spermiogenesi, inducendo l'espressione della APB da parte delle cellule del Sertoli, ed inoltre determinano la comparsa e la permanenza dei caratteri sessuali secondari nell'uomo.

Il testicolo viene irrorato dall'arteria testicolare, ramo diretto dell'aorta addominale e da rami dell'arteria deferenziale e cremasterica. L'arteria testicolare decorre lungo il funicolo spermatico, presenta alcuni rami collaterali per il dotto deferente e per l'epididimo e, una volta giunta nell'ilo testicolare, si divide nei suoi rami terminali, che decorrono nei setti testicolari. Il drenaggio venoso è a carico delle vene testicolari superficiali e profonde, le quali si uniscono alle vene dell'epididimo, formando il plesso pampiniforme anteriore e posteriore. Il plesso posteriore drena nella vena epigastrica inferiore, mentre il plesso anteriore dà

luogo alla vena testicolare, che sbocca direttamente in vena cava inferiore nel caso della vena testicolare di destra e in vena renale sinistra nel caso della vena testicolare sinistra. Il drenaggio linfatico fa capo ai linfonodi preaortici e paraortici, ma anche i linfonodi iliaci esterni e inguinali esterni nel caso del periorchio. Infine, il plesso nervoso testicolare è formato dai rami del parasimpatico derivanti dal plesso deferenziale e rami dell'ortosimpatico derivanti dal plesso celiaco.



Le vie spermatiche

L'inizio delle vie spermatiche è rappresentato dai tubuli retti, sempre all'interno del testicolo, nei quali sboccano fino a 6 tubuli seminiferi. I tubuli retti decorrono nel mediastino e si anastomizzano nella rete testis. Dalla rete testis prendono origine 15-20 condottini efferenti che emergono dalla superficie posteriore e superiore del testicolo e si immettono nel condotto dell'epididimo formando la testa dell'epididimo. L'epitelio della rete testis è formato da cellule ciliate e non, le prime delle quali favoriscono la progressione degli spermatozoi, mentre le seconde svolgono funzione di riassorbimento di liquidi e soluti.

L'epididimo è un organo pari, addossato al margine posteriore e superiore di ciascun testicolo, ed è contenuto nella tonaca vaginale propria. Gli spermatozoi possono stanziare nell'epididimo anche per più di sette giorni e qui acquistano la motilità. L'epididimo è lungo circa 5 cm e viene suddiviso in testa, che aderisce al polo superiore del testicolo, corpo, applicato al margine posteriore del testicolo, e coda, che raggiunge il polo inferiore che si continua nel dotto deferente. Il condotto dell'epididimo è costituito dalle tonache mucosa, muscolare e avventizia. La tonaca mucosa è composta principalmente da cellule cilindriche con stereociglia immobili che hanno attività di assorbimento. La tonaca muscolare è formata da miocellule, che a livello della testa e del corpo sono disposte circolarmente e consentono la progressione del contenuto luminale, a livello della coda sono disposte sia longitudinalmente che circolarmente, sono sotto diretto controllo del sistema adrenergico, e si contraggono solo nelle fasi direttamente precedenti l'eiaculazione, per consentire il trasporto del contenuto verso dotto deferente e uretra. Le arterie per l'epididimo sono rami epididimali dell'arteria testicolare e deferenziale.

Il condotto deferente origina dalla coda dell'epididimo, ha un calibro di circa 2-3mm, ed è dotato di una spessa tonaca muscolare. La prima porzione, definita parte testicolare decorre posteromedialmente all'epididimo fino ad entrare a far parte del funicolo spermatico. Inserito in questo attraversa il canale inguinale fino al suo orifizio interno (parte inguinale) ed entra quindi nella cavità addominale (parte addominopelvica). Si dirige quindi verso la base della prostata dove converge con il deferente del lato opposto. L'ultimo tratto è dilatato e viene definito ampolla deferenziale, e riunendosi con i dotti delle rispettive vescichette seminali (poste lateralmente al dotto deferente) forma i condotti eiaculatori. La tonaca mucosa è sollevata in pieghe longitudinali che si distendono quando il lume è dilatato, l'epitelio di rivestimento mantiene le caratteristiche di quello epididimale, con cellule cilindriche e stereociglia. La tonaca muscolare è spessa, costituita da tre strati, e presenta notevole attività contrattile prima della eiaculazione. Infine l'avventizia è costituita da connettivo denso con fibre elastiche e fibrocellule muscolari lisce, ed è riccamente vascolarizzata e innervata. Le arterie per il condotto deferenziale provengono dal ramo deferenziale dell'arteria vescicolodeferenziale, che segue il condotto lungo il suo tragitto.

I condotti eiaculatori originano dalla confluenza del dotto deferente con le vescichette seminali, decorrono per gran parte della loro lunghezza (2-2.5cm) nella prostata e terminano nell'uretra prostatica, con due distinti orifizi sul collicolo seminale. Presentano una tonaca mucosa con epitelio cilindrico semplice, che diventa epitelio di transizione in prossimità dello sbocco nell'uretra. La tonaca muscolare è data da fascetti di miocellule disposti in varie direzioni.

L'uretra è un condotto impari e mediano, di circa 20 cm di lunghezza, che rappresenta l'ultimo tratto dell'apparato urinario, permettendo lo svuotamento della vescica durante la minzione, ma anche l'ultimo tratto delle vie spermatiche, permettendo infatti anche il passaggio dello sperma, dallo sbocco dei condotti eiaculatori in poi (uretra comune). Viene suddivisa schematicamente in una porzione pelvica, che va dall'origine al trigono urogenitale, una porzione perineale, dal trigono urogenitale alla porzione libera del pene e una porzione peniena,

all'interno del corpo spongioso. Origina dal trigono vescicale, attraversa la prostata, all'interno della quale riceve i dotti eiaculatori, attraversa quindi il trigono urogenitale, dove è circondata da fibre muscolari striate che costituiscono il muscolo sfintere striato dell'uretra. Si ha poi un tratto di 1cm senza rivestimenti particolari, nel quale l'uretra è in rapporto con le ghiandole bulbouretrali, e infine si inserisce nel corpo spongioso dove decorre fino all'estremità del pene, e in corrispondenza dell'apice del glande forma il meato uretrale esterno. Il lume allo stato di riposo è virtuale ed internamente a questo possiamo individuare il collicolo seminale, gli orifizi delle ghiandole prostatiche, la cresta uretrale da cui si dipartono i suoi due frenuli, gli orifizi delle ghiandole bulbouretrali, le lacune uretrali, la valvola della fossa navicolare e la fossa navicolare. La parete dell'uretra è costituita da tonaca mucosa e tonaca muscolare, che viene sostituita da tessuto erettile nell'uretra peniena. La mucosa è rivestita da epitelio di transizione, analogo a quello vescicale, fino allo sbocco dei dotti eiaculatori (uretra urinaria), poi epitelio cilindrico fino alla fossa navicolare, dove viene sostituito prima da epitelio pavimentoso composto, poi in prossimità del meato uretrale esterno da epitelio pavimentoso cheratinizzato. La tonaca muscolare è costituita da una componente liscia e da una striata. La muscolatura liscia è divisa in uno strato longitudinale esterno, che diminuisce di spessore progressivamente dalla vescica, fino a terminare all'inizio dell'uretra spongiosa, e uno strato circolare esterno, che costituisce lo sfintere interno, in continuità col trigono vescicale. La muscolatura striata, più esterna, è rappresentata dal muscolo sfintere striato esterno, che presenta un particolare inspessimento a livello del trigono. Lo sfintere striato esercita un controllo volontario sul riflesso della minzione. Nella porzione spongiosa il tessuto muscolare viene sostituito dal corpo spongioso dell'uretra. Le arterie che irrorano l'uretra derivano da arteria rettale media, arteria prostatica, arteria pudenda interna, arteria trasversa profonda del perineo e dalla arteria dorsale del pene. Le vene formano un plesso che scarica nel plesso pudendo, in quello vescicoprostatico e nelle vene profonde del pene. I vasi linfatici drenano nei linfonodi iliaci interni, esterni e inguinali. L'innervazione è sostenuta da rami del pudendo interno per lo sfintere striato, mentre il plesso pelvico è responsabile dell'innervazione viscerale.

Il funicolo spermatico

Il funicolo spermatico decorre dal margine posteriore del testicolo all'orifizio interno del canale inguinale. Contiene il canale deferente, accompagnato dai rispettivi vasi e nervi, l'arteria testicolare, l'arteria spermatica esterna, le vene testicolari che costituiscono nel funicolo il plesso pampiniforme, vasi linfatici, nervi, il legamento vaginale che è residuo oblitterato del condotto peritoneovaginale, e infine dal muscolo cremastere interno. Queste componenti sono tenute insieme da tessuto connettivo lasso e circondate da involucri muscoloconnettivali, in particolare riconosciamo dall'esterno verso l'interno la fascia cremasterica, distacco della fascia dell'obliquo esterno, il muscolo cremastere, che deriva dall'obliquo interno e dal trasverso, e la tonaca vaginale comune.

Le ghiandole annesse alle vie spermatiche

Le ghiandole annesse alle vie spermatiche sono rappresentate dalle vescichette seminali, dalla prostata e dalle ghiandole bulbouretrali.

Le vescichette seminali sono organi pari e simmetrici cavi, con dimensioni nell'adulto 5-8 x 2.5 x 1.5 cm, aderenti alla parte posteriore della base della vescica. Hanno forma conica e il loro apice si unisce alle ampolle deferenziali per dare origine ai condotti eiaculatori. Ogni vescichetta seminale è costituita da un dotto a fondo cieco, lungo circa 10-15cm ripiegato su sé stesso e ripieno dei prodotti dell'epitelio, vischioso, debolmente alcalino e ricco di proteine, fruttosio, sorbitolo, acido citrico e prostaglandine. Questo liquido vischioso viene immesso nei dotti eiaculatori durante l'eiaculazione e costituisce il nutrimento e favorisce la sopravvivenza e il mantenimento della motilità degli spermatozoi. Le vescichette seminali sono irrorate dai rami delle arterie vescicolodeferenziali, vescicali inferiori e rettali medie.

La prostata è un organo impari e mediano, ha forma a castagna e dimensioni di 3 x 4 x 2.5, che aumentano generalmente con la vecchiaia, con conseguente difficoltà nella minzione. Si trova inferiormente alla vescica, posteriormente alla sinfisi pubica, anteriormente all'ampolla rettale e superiormente rispetto al trigono urogenitale. È attraversata in senso supero-inferiore dall'uretra e dai condotti eiaculatori nella parte posterosuperiore, che si riversano nell'uretra. Ha una componente ghiandolare e una fibromuscolare. Il parenchima della prostata è rappresentato da 30-50 ghiandole tubuloalveolari, che si raccolgono in 15-30 dotti escretori che sboccano nel collicolo seminale. Le varie ghiandole vengono suddivise in lobuli mediante sepiamenti provenienti dalla capsula prostatica. L'epitelio dei dotti ghiandolari è cilindrico stratificato in prossimità dell'uretra, mentre più distalmente è cilindrico semplice e in continuità con quello secernente degli adenomeri. Il secreto prostatico costituisce il 15-30% del liquido seminale, è leggermente acido, e contiene numerosi enzimi, prostaglandine, spermina e spermidina, immunoglobuline e zinco. L'epitelio ghiandolare è sotto l'azione degli

ormoni androgeni, e in corrispondenza dell'epitelio il testosterone viene trasformato nella forma più attiva, il diidrotestosterone. La parete muscolare liscia circonda gli adenomeri e i dotti e permette lo svuotamento degli stessi durante l'eiaculazione. La prostata è irrorata principalmente da rami provenienti dalle arterie vescicali inferiori e rami accessori sono forniti dalle pudende interne e rettali medie. Il deflusso venoso avviene mediante due plessi venosi che si costituiscono lateroposteriormente all'organo e che scaricano nelle vene iliache interne.

Le ghiandole bulbouretrali di Cowper misurano circa 1cm, sono collocate nello spessore del diaframma urogenitale e circondate dal muscolo sfintere striato dell'uretra, che contraendosi ne determina la spremitura. Il dotto escretore attraversa la fascia del diaframma urogenitale e si inserisce in uretra. Il secreto prodotto dalle ghiandole bulbouretrali, ricco di proteine neutre e sialoproteine viene immesso nell'uretra in massima parte nella fase immediatamente precedente l'eiaculazione.

I genitali esterni

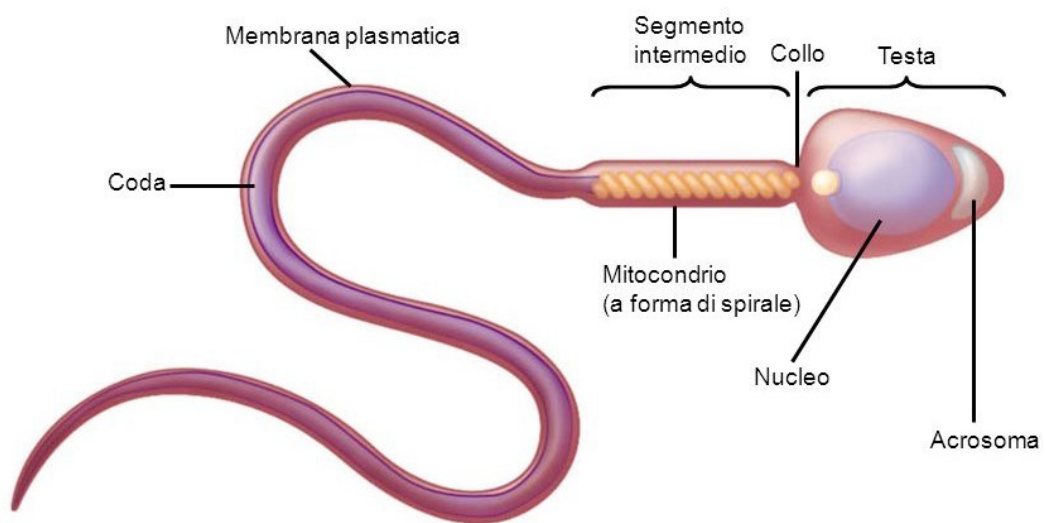
Il **pene** è l'organo maschile deputato alla minzione e alla copulazione. È costituito da tre corpi cavernosi, uno dei quali contenente l'uretra e che viene definito corpo spongioso. Viene suddiviso in radice, parte fissa adesa al perineo anteriore, e un corpo, porzione invece mobile, normalmente flaccida e che termina col glande, porzione distale ingrossata. I corpi cavernosi originano dalla rispettiva branca ischiopubica della pelvi, aderendo al periostio interno, fino all'arcata sottopubica, dove prendono contatto col corpo cavernoso controlaterale. Il corpo spongioso prende origine dal bulbo dell'uretra, regione ricoperta dai muscoli bulbocavernosi e che aderisce alla superficie inferiore del diaframma urogenitale. Il bulbo è attraversato dall'uretra e dai dotti escretori delle ghiandole bulbouretrali. A livello del margine inferiore della sinfisi pubica il bulbo si continua col corpo spongioso che aderisce ai corpi cavernosi posizionandosi sotto di essi. I due corpi cavernosi e il corpo spongioso costituiscono il corpo mobile del pene, che è completamente rivestito di cute. L'estremità distale del pene è definita glande (costituito prevalentemente dal corpo spongioso), risulta più voluminosa rispetto al corpo, dal quale viene suddivisa mediante un solco, definito solco balano prepuziale. All'apice del glande troviamo il meato uretrale esterno. Il glande è rivestito anch'esso da cute, definita prepuzio, che lo ricopre completamente a pene flaccido, ma che lo scopre a pene eretto, e che è adesa alla superficie ventrale del glande per mezzo di una piega cutanea, denominata prepuzio. I corpi cavernosi, come detto, si accollano medialmente e delimitano due solchi, uno ventrale, dove si colloca il corpo spongioso, e uno dorsale, dove decorre la vena dorsale profonda del pene. I corpi cavernosi sono rivestiti da un involucro fibroso, la tonaca albuginea, scarsamente estendibile, che viene messa sotto tensione durante l'erezione per la dilatazione dei corpi cavernosi. I corpi cavernosi sono formati da lacune sanguigne di forma irregolare, separate in maniera incompleta da sepiamenti della tonaca albuginea, definiti trabecole. Sulle trabecole decorrono le arterie elicine, che a pene flaccido riversano scarso sangue nelle lacune, mentre durante l'erezione versano notevoli quantità. A pene flaccido questo sangue viene drenato da vene che durante l'erezione risultano invece compresse.

Il corpo spongioso ha un'organizzazione simile ai corpi cavernosi. Il pene è rivestito interamente di cute, nel sottocute distinguiamo il dartos, strato di fibra muscolare liscia, e lo strato sottodartico, costituito da connettivo lasso. Ancora internamente è presente la fascia del pene, la quale riveste la tonaca albuginea e divide i vasi dorsali profondi e superficiali del pene. La fascia è connessa ai muscoli ischiocavernosi, ai muscoli bulbocavernosi e alla fascia perineale superficiale. Il pene, infine, risulta essere ancorato all'apparato sospenditore del pene, costituito dal legamento fundiforme e dal legamento sospenditore. Il primo parte dalla linea alba, in prossimità della sinfisi pubica, per poi avvolgere il pene e continuarsi nel setto scrotale, mentre il secondo origina dalla sinfisi pubica, per aderire alla fascia del pene. La vascolarizzazione del pene è garantita dalle arterie pudende interne e dalle arterie pudende esterne. Le arterie pudende interne forniscono le due arterie del pene. Queste, a loro volta, forniscono le arterie profonde del pene, le quali decorrono nello spessore dei corpi cavernosi, riforniscono l'arteria bulbouretrale, che arriva al bulbo dell'uretra e infine l'arteria uretrale, che decorre nel corpo spongioso. Le arterie pudende esterne invece irrorano, insieme a rami delle arterie del pene e le arterie dorsali del pene, gli involucri del pene. Il deflusso venoso è ad opera di diverse strutture tra cui: il plesso pudendo, che riceve le vene uretrali e bulbouretrali, ma anche la vena dorsale profonda, la quale, a sua volta, riceve rami perforanti e circonflessi derivanti da corpi cavernosi e spongioso; le vene pudende interne, che ricevono le porzioni posteriori delle vene profonde del pene. Il deflusso venoso degli involucri viene invece drenato dalla vena dorsale superficiale, la quale sbocca nella vena grande safena. Il drenaggio linfatico è a carico dei linfonodi inguinali superficiali, inguinali profondi e iliaci esterni. L'innervazione può essere distinta in superficiale e profonda; la superficiale è fornita dal nervo spermatico esterno, ramo del genitofemorale, dal ramo genitale del nervo ileoinguinale e dai rami perineali superficiali e dorsali del pene del nervo pudendo; la profonda è deputata all'innervazione dei corpi erettili ed è fornita dai nervi dorsali del pene, rami del nervo pudendo e dai nervi perineali profondi. L'innervazione ortosimpatica deriva dal plesso ipogastrico, mentre la parasimpatica deriva dal parasimpatico sacrale.

Lo scroto è una sacca contenente i testicoli, l'epididimo e il tratto iniziale del funicolo spermatico, si trova alla radice delle cosce, sotto la sinfisi pubica, inferiormente alla radice del pene. Riconosciamo una faccia anteriore, dove si poggia il pene a riposo, un'estremità inferiore, che sostiene i testicoli, una superiore (radice) aderente alla regione pubica e una posteriore in continuità col perineo. Risulta diviso lungo la linea mediana dal rafe, che si continua internamente col setto, che separa i testicoli. Le dimensioni e il turgore dello scroto possono variare con l'età, con la temperatura corporea, situazioni febbrili e particolari stati emotivi. Dall'esterno all'interno lo scroto è ricoperto da cute, sottile elastica e pigmentata con peli lunghi e radi, dalla tonaca Dartos, composta da sottili fasci di miocellule che contraendosi determinano un'accentuazione delle pliche cutanee, dallo strato sottodartoideo, piano di scorrimento per gli strati superiori, ed infine dalla fascia cremasterica, muscolo cremasterico e tonaca vaginale che sono continuazioni delle formazioni che costituiscono il funicolo spermatico. La vascolarizzazione arteriosa superficiale è garantita dalle arterie pudende esterne e perineali superficiali, mentre quella profonda da rami delle arterie spermatiche esterne e delle epigastriche inferiori. Il deflusso venoso è garantito da un sistema venoso superficiale che scarica a livello della grande safena. Il drenaggio linfatico è a carico dei linfonodi inguinali superficiali. L'innervazione dello scroto è fornita da rami derivanti dal nervo spermatico esterno, dal nervo genitofemorale, dal nervo ileoinguinale, dal nervo pudendo tramite il nervo perineale superficiale e dai rami perineali del nervo femorocutaneo posteriore. Inoltre, il dartos possiede l'innervazione ortosimpatica e parasimpatica, mentre il cremastere è innervato da fibre motrici del nervo spermatico esterno [1][2].

Gli spermatozoi

Lo spermatozoo è la cellula gametica maschile, è formato da una testa, di misura $4 \times 3 \times 2 \mu\text{m}$ di lunghezza, contenente per gran parte del suo volume il nucleo, l'acrosoma, grossa vescicola a forma di cappello che è adesa internamente al nucleo e esternamente alla membrana plasmatica, che contiene importanti enzimi per la fecondazione dell'ovulo, la coda di dimensioni di $55-60 \mu\text{m}$, che è la parte mobile dello spermatozoo.



Lo sperma

Lo sperma è un liquido biancastro vischioso, costituito da spermatozoi e da una parte fluida, definito liquido seminale. Il liquido seminale è secreto prevalentemente dalle vescichette seminali (50-80%), dalla prostata (15-30%) e in minima parte dal prodotto dell'epitelio che riveste le vie spermatiche. È composto da fruttosio, sorbitolo, acido citrico, glicoproteine, lipidi, prostaglandine, fibrinolisinasi, amilasi, fosfatasi acida, carnitina, zinco e altre componenti che permettono la sopravvivenza e la motilità degli spermatozoi. La quantità di sperma emessa con l'eiaculazione è tra i 2-5 ml, e contiene normalmente 40 milioni per ml.

L'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi

La regolazione endocrina della funzione testicolare avviene ad opera dell'asse gonadotropo, il quale comprende principalmente ipotalamo, ipofisi e gonadi.

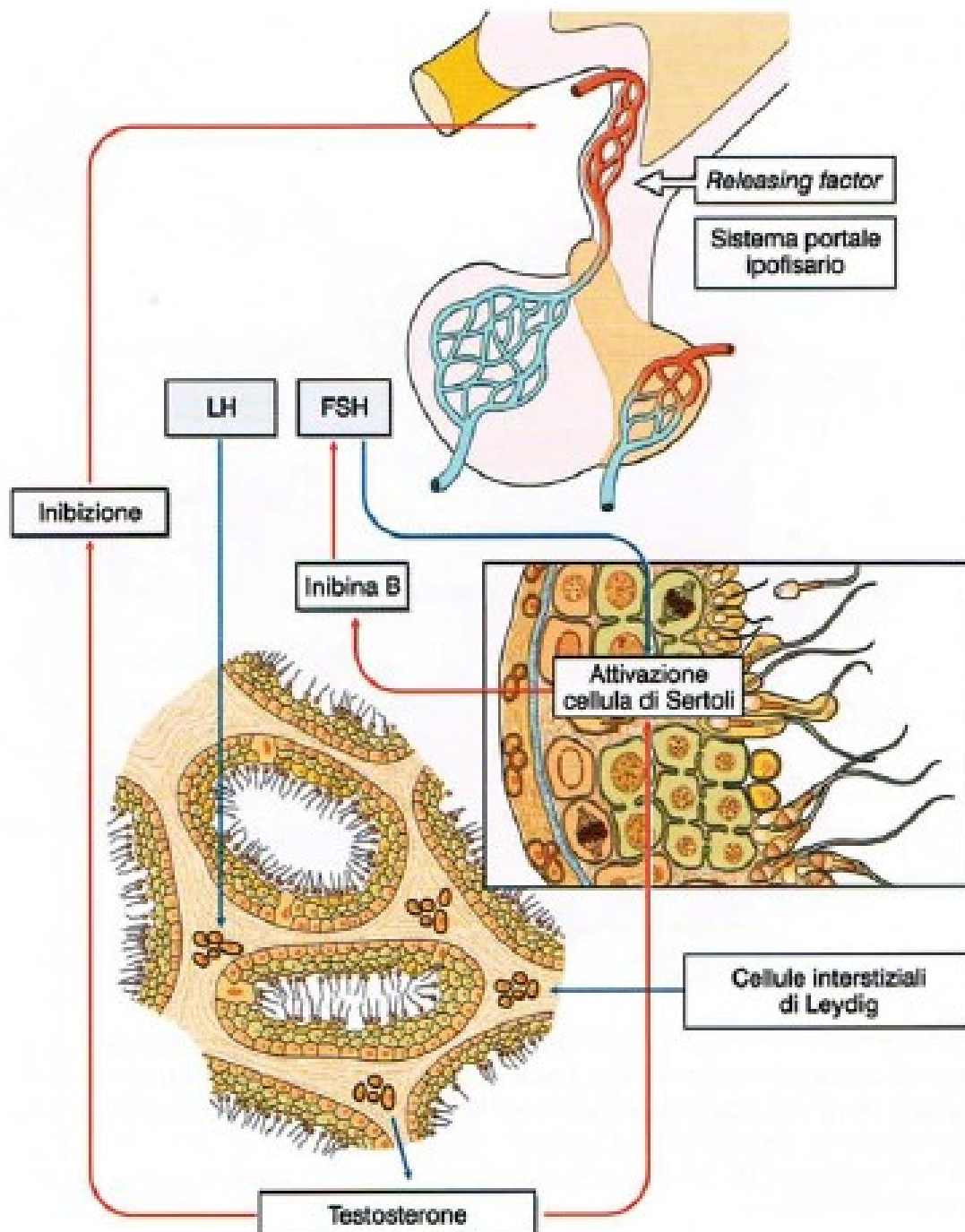
L'**ipotalamo** costituisce la parte ventrale del diencefalo, situata nella zona centrale interna ai due emisferi cerebrali. Comprende numerosi nuclei, che attivano, controllano e integrano i meccanismi autonomici periferici, l'attività endocrina e molte funzioni somatiche, quali termoregolazione, sonno, bilancio idro-salino e senso della fame. Due nuclei ipotalamici (sopra-ottico e para-ventricolare) sono collegati direttamente alla porzione posteriore dell'ipofisi tramite neuroni che formano il fascio ipotalamo-ipofisario, essenziale per il controllo del sistema endocrino.

L'**ipofisi** è una ghiandola endocrina posta alla base del cranio, nella fossa della sella turcica dell'osso sfenoide, in prossimità del chiasma ottico. Consta di due lobi, il lobo anteriore (ipofisi anteriore o adeno-ipofisi) e il lobo posteriore (ipofisi posteriore o neuro-ipofisi), strutturalmente e funzionalmente diversi, che controllano, attraverso la secrezione di numerosi ormoni, l'attività endocrina e metabolica di tutto l'organismo.

I **testicoli**, già ampiamente descritti, costituiscono le gonadi maschili. Hanno la funzione principale di produrre gli spermatozoi e alcuni ormoni, fra i quali il testosterone.

I neuroni che costituiscono l'ipotalamo producono sostanze attive di natura polipeptidica, chiamate ormoni di rilascio (releasing hormones o RH), che agiscono sulle cellule dell'adeno-ipofisi, stimolandole in maniera specifica a produrre i rispettivi ormoni. In particolare, l'ormone di liberazione delle gonadotropine (GnRH), un decapeptide codificato da un gene localizzato sul braccio corto del cromosoma 8, agisce sulle cellule gonadotrope ipofisarie, stimolandole alla secrezione dell'ormone luteinizzante (luteinizing hormone, LH) e

dell'ormone follicolo-stimolante (follicle-stimulating hormone, FSH). La secrezione del GnRH è di tipo pulsatile, e questo rappresenta un prerequisito fondamentale per la corretta funzione riproduttiva.



FSH ed LH, prodotti rispettivamente dalle cellule beta e gamma dell'adeno-ipofisi, agiscono sui testicoli. L'FSH agisce promuovendo le prime fasi maturative della spermatogenesi e favorendo la sintesi della proteina che lega il testosterone (ABP), mentre l'LH ha il compito di stimolare le fasi finali della spermatogenesi e la secrezione testicolare di ormoni.

Altri ormoni che nel maschio esercitano un'azione a carico dell'asse sono l'inibina B, l'INSL3, e la prolattina (PRL).L'inibina B è un ormone gonadotropino-dipendente prodotto dalle cellule di Sertoli e da alcuni tipi di cellule spermatogenetiche, che esercita il feed-back negativo da parte del testicolo sulla produzione di FSH. I valori di inibina B sono direttamente proporzionali alla funzione spermatogenetica e sono bassi o indosabili nei soggetti con ipogonadismo da testicolopatia primaria.

L'insulin-like factor 3 (INSL3) è un membro della famiglia degli ormoni simili alla relaxina, prodotto dalle cellule di Leydig. Oltre a guidare la discesa dei testicoli durante lo sviluppo embrionale, INSL3 è coinvolto anche in altre vie di signaling endocrino e paracrino nei maschi adulti. Infatti, INSL-3 agisce come ormone ad azione androgenica in vari distretti corporei e in particolare svolge un ruolo chiave nel metabolismo osseo. Infine, esso ha effetto inibitorio simile a quello del testosterone a livello centrale.

La PRL è un ormone polipeptico secreto dall'adenoipofisi ma, a differenza delle gonadotropine, non è chiaro quale sia la funzione fisiologica nel maschio, dove ha esclusivamente attività inibitorie a livello centrale, influenzando negativamente la capacità riproduttiva e la funzione sessuale. La PRL tende a elevarsi anche in condizioni di stress acuto e pertanto queste condizioni vanno distinte da quelle in cui la presenza di un adenoma ipofisario PRL-secernente mantiene costantemente elevati i livelli di questo ormone.

Patologie dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi

Le patologie dello sviluppo e della funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo portano ad alterazioni della funzione testicolare e sono pertanto responsabili dell'ipogonadismo, definito come una sindrome clinica che origina dall'insufficiente capacità del testicolo di produrre livelli fisiologici di testosterone e di spermatozoi a causa dell'alterazione a uno o più livelli dell'asse. Tale condizione può avere cause differenti e manifestarsi in diverse forme a seconda del periodo di insorgenza. Dal punto di vista patogenetico, l'ipogonadismo può essere distinto in tre forme:

- **primitivo o ipergonadotropo**, nel quale l'alterazione a carico delle cellule di Leydig compromette la produzione di androgeni (testosterone) e/o altera i tubuli seminiferi, con conseguente oligospermia o azoospermia. Queste forme sono caratterizzate da elevati livelli di gonadotropine e basse concentrazioni di testosterone;
- **secondario o ipogonadotropo**, in cui alterazioni dell'ipotalamo o dell'ipofisi compromettono la secrezione delle gonadotropine e di conseguenza la funzione testicolare. In questi pazienti vengono osservati ridotti livelli di gonadotropine e di testosterone;
- **da alterata risposta agli androgeni**, nel quale, a causa di un'alterazione della proteina recettore o per difetti enzimatici, la risposta agli androgeni prodotti dal testicolo è ridotta o assente. Questi casi sono caratterizzati da normali livelli di FSH con elevate concentrazioni di LH e testosterone normale o elevato [3][4][5][6][7].

CAPITOLO 2

L'INFERTILITÀ

L'infertilità è definita dall'OMS come l'incapacità della coppia ad ottenere una gravidanza dopo 12 mesi di rapporti sessuali regolari e non protetti.[8] L'infertilità interessa milioni di persone in età riproduttiva ed ha un importante impatto sulle loro famiglie e comunità. Si stima che al mondo 48 milioni di coppie e 186 milioni di individui siano infertili [9][10][11]. In Italia, risulta essere interessato circa il 15% delle coppie. Si stima che la causa può essere identificabile in una condizione patologica maschile nel 20-30% dei casi, femminile nel 37%, della coppia nel 17%, idiopatica nel 15% e causata da un fattore genetico nello 0,9%, come riportato dall'Istituto Superiore di Sanità [12]. Nel sistema riproduttivo maschile, l'infertilità è più frequentemente causata da problemi nell'eiaculazione, dall'assenza o bassi livelli di spermatozoi nel seme, da alterata morfologia e motilità degli stessi. Nelle donne, l'infertilità può essere causata da un'ampia pletora di alterazioni a livello dell'ovaio, dell'utero, delle tube di Falloppio, del sistema endocrino e altri problemi. L'infertilità può essere primitiva o secondaria. Si definisce primitiva quando l'individuo interessato non ha mai ottenuto una gravidanza, secondaria quando invece si è già ottenuta una gravidanza [13].

Infertilità maschile

L'uomo risulta essere responsabile del 20% degli episodi di infertilità ed è comunque un fattore contribuente al mancato concepimento in un altro 30-40% dei casi totali di infertilità [14]. È importante anche riportare il preoccupante trend di riduzione del numero degli spermatozoi nella popolazione generale nel corso delle ultime decadi [15]. La concentrazione media degli spermatozoi risultava essere di 113 milioni/ml nel 1940, mentre nel 1990 era scesa a 66 milioni/ml [16]. Non si conosce con sicurezza la causa di questa riduzione nella conta degli spermatozoi, ma si suppone sia causata da un'aumentata esposizione a tossine ambientali e ad un'aumentata inclusività degli studi,

determinata dall'evoluzione della medicina, che permette a sempre più persone con uno stato di salute non ottimale di partecipare ad attività riproduttive. Inoltre, è da considerare anche l'importante variazione nel corso del tempo delle tecniche laboratoristiche, che si può riflettere in questa alterazione di risultati.

Le cause di infertilità nell'uomo sono molteplici e si possono suddividere in primo luogo in condizioni reversibili e irreversibili. Oltre a cause ben definite sono sempre da tenere in considerazione fattori che possono influenzare entrambi i partner quali l'età, farmaci assunti, storia di interventi chirurgici, l'esposizione a tossine ambientali, problemi genetici e malattie sistemiche. L'obiettivo del medico risulta quindi quello di individuare i fattori coinvolti nell'infertilità del paziente così da poter offrire trattamenti per quelle cause che risulteranno essere reversibili ed eventualmente candidare i pazienti a percorsi di riproduzione assistita ed infine di offrire supporto e counseling a quei pazienti che soffrono di condizioni irreversibili [17][47].

La patogenesi dell'infertilità nell'uomo può essere schematicamente classificata in pre-testicolare, testicolare e post testicolare, in relazione alla causa principale, senza dimenticare però che in un 15% dei casi non si riesce ad individuare una causa specifica (infertilità idiopatica).

Cause pre-testicolari

Le cause pre-testicolari sono accomunate dal fatto che l'apparato riproduttivo maschile è anatomicamente conservato. Infatti, in queste condizioni, l'alterazione risiede nell'asse gonadotropo con conseguente alterazione della spermatogenesi, la quale risulterà essere abolita o ridotta.

Tra le cause pre-testicolari riconosciamo:

- disfunzioni a livello ipotalamico, congenite, come la sindrome di Kallmann, patologia genetica caratterizzata da alterata funzione ipofisaria spesso accompagnata da ipo/anosmia o acquisite (tumori, radioterapie e traumi);

- patologie ipofisarie (es. adenomi, craniofaringiomi, emocromatosi). In caso di tumori dell'ipofisi si può verificare un ipogonadismo per compressione e sofferenza della stessa oppure possiamo avere un ipogonadismo ipogonadotropo funzionale, nel caso in cui si abbia un adenoma secernente GH e ACTH;
- endocrinopatie (es. iperprolattinemia, sindrome di Cushing, ipo/ipertiroidismo, acromegalia)
- malattie sistemiche

Cause testicolari

Le cause testicolari hanno in comune un'alterazione primitiva del testicolo che compromette la spermatogenesi in modo più o meno marcato. Possono essere congenite o acquisite e, dal punto di vista prognostico, le possibilità riproduttive sono decisamente più scarse rispetto alle forme pre-testicolari.

Tra le cause testicolari annoveriamo:

- il varicocele (trattato più ampiamente dopo);
- la sindrome di Klinefelter, che rappresenta la testicolopatia primitiva più frequente, caratterizzata da un'aneuploidia dei cromosomi sessuali, con soggetti che possono presentare una o più X sovrannumerarie. Questa sindrome presenta caratteri secondari sessuali normalmente sviluppati, testicoli molto piccoli (<4cm), lievi deficit cognitivi, e un quadro di azospermia correlato a un ipergonadismo ipogonadotropo;
- le microdelezioni del cromosoma Y, cromosoma che risulta fondamentale per lo sviluppo del testicolo in età fetale e il conseguente avvio della spermiogenesi;
- il criptorchidismo, frequente patologia congenita caratterizzata dalla mancata discesa in epoca fetale del testicolo nella borsa scrotale. Il criptorchidismo si associa ad un aumentato rischio di infertilità e ad un aumentato rischio di tumori testicolari, motivo per cui è indicata una precoce correzione chirurgica;

- infezioni testicolari, in particolar modo se cronicizzate. Le infezioni possono essere sia virali (parotite, varicella) che batteriche (gonorrea, chlamydia e sifilide le più frequenti);
- farmaci, come ad esempio chemioterapici, ormoni (androgeni e steroidi anabolizzanti) ed anche alcuni antibiotici (aminoglicosidici e chinolonici);
- tumori, sia per effetto diretto dello stesso, come per compressione e invasione dei tubuli seminiferi, sia per cause iatrogene legate al trattamento (chemioterapici, radioterapia);
- traumi, tra i quali citiamo anche la torsione testicolare.

Cause post-testicolari

Le cause post-testicolari sono caratterizzate da una spermatogenesi conservata, ma con difetti organici o funzionali delle vie spermatiche che ostacolano il concepimento. Riconosciamo tra queste cause oligo-azoospermie su base ostruttiva e disfunzioni sessuali (sia dell'erezione che dell'eiaculazione). Tra le altre cause annoveriamo la fibrosi cistica, che in alcuni casi può determinare una agenesia mono o bilaterale dei dotti deferenti, con riduzione o assenza di spermatozoi nell'eiaculato, cisti prostatiche, che possono determinare occlusione dei dotti eiaculatori, e infiammazione delle ghiandole accessorie, causa a cavallo tra le testicolari e post testicolari. Infatti, l'infiammazione a carico delle ghiandole accessorie può determinare sia un'alterazione del secreto con conseguente ostruzione delle vie seminali, ma anche un'alterazione della spermiogenesi sia per effetto diretto dei microorganismi sia per azione delle citochine infiammatorie.

| Cause pre-testicolari | | |
|-------------------------------|--|--|
| Patologie ipotalamiche | | |
| | Congenite | Acquisite |
| | Ipogonadismo ipogonadotropo congenito normosmico Sindrome di Kallmann Sindrome di Prader-Willi Sindrome di Laurence-Moon-Biedl | Tumori Radiazioni Traumi Sarcoidosi Emocromatosi |
| Patologie ipofisarie | | |
| | Tumori (adenomi, craniofaringiomi) Radiazioni Sarcoidosi Emocromatosi Traumi Apoplessia | |
| Cause ormonali | | |
| | Iperprolattinemia Ipercortisolismo Sindrome adrenogenitale Ipertiroidismo Ipotiroidismo Acromegalia Terapia androgenica sostitutiva Tumori secernenti ormoni sessuali | |
| Malattie sistemiche | | |
| | Epatopatie Nefropatie Obesità Emocromatosi Malnutrizione HIV | |
| Cause testicolari | | |
| | Congenite | Acquisite |
| | Sindrome di Klinefelter Microdelezioni del cromosoma Y Sindrome di Down Distrofia miotonica Criptorchidismo Anorchia congenita bilaterale | Varicocele Infezioni Traumi Farmaci Tumori |
| Cause post-testicolari | | |
| | Congenite | Acquisite |
| | Agenesia congenita dei dotti deferenti Sindrome di Kartagener Sindrome di Young Ipospadi/epispadi | Infezioni delle ghiandole sessuali accessorie Cisti prostatiche mediane Vasectomia Traumi Disfunzione erettile Anomalie dell'eiaculazione |

Tabella riassuntiva sulle possibili cause di infertilità

Percorso diagnostico dell'infertilità maschile

Nel percorso diagnostico dell'infertilità è di fondamentale importanza indagare entrambi i partner.

Anamnesi ed esame obiettivo

Per quanto riguarda il partner maschile la valutazione inizia con una accurata anamnesi, andando a studiare in primis lo sviluppo sessuale del soggetto, eventuale storia di criptorchidismo, età dello sviluppo puberale. Importante anche indagare la famiglia del soggetto, studiando la fertilità e/o storia di sviluppo puberale dei familiari. È indicato poi ricercare eventuali malattie sistemiche, che possono essere causa diretta o contribuire all'infertilità, ricordiamo diabete, epatopatie e nefropatie. Vanno indagati anche lo stile di vita del soggetto, il suo peso e la sua dieta. Infatti, diete sbilanciate ed eccesso di peso possono compromettere la fertilità. Da ricercare inoltre l'eventuale consumo di alcol e se il soggetto è fumatore, attività fortemente correlate alla riduzione della fertilità e da scoraggiare. Infine, va studiata l'esposizione a sostanze tossiche, quali possono essere gli ftalati, che si usano comunemente come pesticidi, o il bisfenolo A o piombo, esposizione che si può verificare nel contesto lavorativo.

Completata l'anamnesi, si prosegue con l'esame obiettivo, durante il quale è importante innanzitutto una valutazione in toto del soggetto alla ricerca di eventuali segni quali quelli caratteristici di malattie sistemiche (come endocrinopatie), e della normale espressione dei caratteri sessuali secondari. In questo contesto, se il paziente risulta particolarmente muscoloso con una bassa conta seminale e bassi livelli di LH sospettare un abuso di testosterone. Completato l'esame obiettivo generale, passare a quello genitale, andando a valutare:

- il pene, eventuale ipospadia, fimosi e placche di Peyronie;
- i testicoli, di cui valutiamo il volume, che nell'adulto dovrebbe essere di almeno 15 ml, con una lunghezza di circa 4cm, la posizione, la forma, la consistenza e la presenza di nodularità;

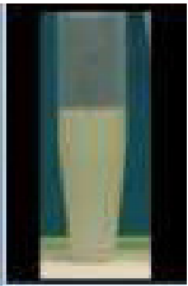


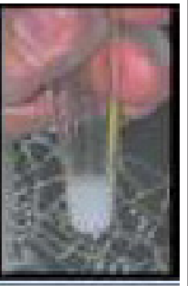

- gli epididimi;
- il dotto deferente, di cui si valutano dilatazione e agenesia. Un'agenesia bilaterale è riportata nel 1-2% dei casi di uomini infertili e si è vista essere correlata alla fibrosi cistica, anche in assenza di altre manifestazioni cliniche della stessa [19].
- eventuale presenza di idrocele, da approfondire con ecografia;
- varicocele, che è la più comune causa di infertilità correggibile;
- segni di malattie sessualmente trasmissibili quali papille, vescicole, verruche;
- la prostata, attraverso l'esplorazione digitale rettale.

Esami di laboratorio

L'esame imprescindibile per la valutazione della fertilità nell'uomo è lo **spermiogramma**. Secondo le indicazioni incluse nel Manuale WHO 2010, il campione deve essere raccolto tramite masturbazione dopo un periodo di astinenza da rapporti sessuali di 2-7 giorni (idealmente 3-5), quindi conservato in un barattolo sterile a una temperatura compresa tra 20 e 37°C per essere analizzato dopo almeno 30 minuti ma entro un'ora dalla raccolta. In caso di anomalie, l'esame andrà ripetuto dopo almeno 3 mesi (in considerazione del fatto che un ciclo completo della spermatogenesi dura 72 giorni), onde escludere una possibile alterazione temporanea e reversibile della spermatogenesi (es. in seguito a episodio febbrile o per effetto di farmaci) [18]. In primo luogo, viene effettuata una analisi macroscopica del campione, andando a valutare:

- la liquefazione, ossia il riottenimento di uno stato liquido, ad opera di enzimi prostatici, dopo la formazione di coaguli che avviene subito dopo la coagulazione;
- la viscosità, normale o aumentata;
- l'aspetto, che fisiologicamente risulta omogeneo e di colore grigio-opalescente. In caso di riduzione della concentrazione di spermatozoi il liquido risulterà meno opaco, rossastro se presenti emazie, giallastro nei pazienti itterici;

- il volume, che ci permette poi di valutare la concentrazione di spermatozoi. Un volume inferiore a 1.5ml viene definito "ipoposia";
- il pH, normale a 7.2, ci può indicare alterazione del bilancio tra la secrezione alcalina delle vescichette seminali e secrezione acida prostatica.

| Valutazione dell'aspetto | | | | |
|---|---|---|--|---|
| Grigio opalescente | Trasparente | Ematico | Lattescente | Giallastro |
| Colore Opaco | Colore Acquoso | Colore Rosato Rosso | Colore Biancastro | Colore Giallo |
| Proprio | Mancata presenza componente cellulare | Presenza Emazie | Costituito solo da secreto Prostatico | Ittero Assunzione di vitamine |
|  |  |  |  |  |

valutazione dell'aspetto del liquido seminale

Segue l'analisi microscopica del campione in cui il campione viene valutato inizialmente a fresco, andando ad osservare con microscopio ottico x100 la presenza di muco, di aggregati di spermatozoi, di cellule non spermatiche, quali cellule epiteliali, di leucociti, di cellule germinali. Poi viene valutato con microscopio x200 per valutare la motilità e eventuale diluizione necessaria a conteggiare gli spermatozoi. Viene quindi calcolata la concentrazione degli spermatozoi e stimata

la conta totale di spermatozoi nel liquido seminale, moltiplicando la concentrazione per il volume dell'eiaculato. Se il liquido seminale non presenta spermatidi, viene effettuata una centrifugazione e viene ripetuta la conta. L'assenza di spermatidi nell'eiaculato anche dopo centrifugazione viene definita "azoospermia", mentre l'assenza di spermatozoi alla prima valutazione "criptozoospermia". Sempre utilizzando un microscopio ad ingrandimento x200 o x400 viene valutata la motilità degli spermatozoi. È importante eseguire questo esame subito dopo la liquefazione, per evitare alterazioni dovute a cambio del pH o della temperatura. La motilità viene classificata come progressiva per quegli spermatozoi che si muovono attivamente, con traiettorie sia rettilinee che formando ampi cerchi, non progressiva per tutti gli altri pattern di movimento. Si parla di immobilità in assenza completa di movimento. Si studia poi la morfologia degli spermatozoi ed eventuali anomalie vanno segnalate. La testa deve essere liscia, ovale e a contorni regolari; l'acrosoma deve contenere non più di due vacuoli piccoli e mai vacuoli grandi; il collo deve essere dritto, regolare e lungo quanto la testa, privo di eccessivi residui citoplasmatici e con l'asse maggiore allineato con quello della testa; la coda deve essere di calibro uniforme, più sottile del collo e lunga circa 10 volte la testa. Eventuali anomalie vanno segnalate, tenendo in considerazione il fatto che il termine "teratozoospermia" viene riservato ai casi in cui le forme tipiche siano < 4% [18]. Viene valutata inoltre la vitalità degli spermatozoi, prendendo come indicatore della stessa l'integrità della membrana cellulare. Due sono i possibili test per valutarla, colorazione con eosina, che attraverserà solamente spermatozoi con membrana danneggiata, e lo Swelling test, che valuta il rigonfiamento degli spermatozoi se incubati in soluzione iposmotica, a riprova dell'integrità di membrana. Si definisce "necrozoospermia" una percentuale di spermatozoi morti superiore al 58%. Infine, per concludere l'analisi microscopica del campione si effettua il MAR test, o test di agglutinazione mista, che permette di individuare eventuali immunoglobuline anti-spermatozoo.

Il WHO, nel 2010, considerando il quinto percentile di una popolazione che ha ottenuto una gravidanza entro 12 mesi, ha stilato una lista di valori ritenuti "normali". È importante però ricordare come questi valori possano comparire sia in soggetti fertili che infertili e che alterazioni di un singolo parametro non hanno una

forte correlazione con la fertilità a differenza di quanto avviene nel caso di alterazioni di più parametri contemporaneamente [20].

| Parametri seminali | Valori normali ($\geq 5^\circ$ percentile) |
|--------------------------------------|--|
| Volume | $\geq 1,5$ ml |
| pH | $\geq 7,2$ |
| Concentrazione spermatozoi | $\geq 15 \times 10^6/\text{ml}$ |
| Numero totale spermatozoi /eiaculato | $\geq 39 \times 10^6$ |
| Motilità | |
| Progressiva (PR) | $\geq 32\%$ |
| Totale (PR+NP) | $\geq 40\%$ |
| Morfologia (forme tipiche) | $\geq 4\%$ |
| Vitalità | $\geq 58\%$ |
| Leucociti | $< 1 \times 10^6/\text{ml}$ |
| MAR-test (negativo) | $< 50\%$ spermatozoi con particelle adese |
| Definizioni | |
| Normozoospermia | Normalità di tutti i parametri seminali |
| Oligozoospermia | Concentrazione $< 15 \times 10^6/\text{ml}$ o numero totale $< 39 \times 10^6$ |
| Astenozoospermia | PR $< 32\%$ o motilità totale $< 40\%$ |
| Teratozoospermia | Morfologia normale $< 4\%$ |
| Oligo-asteno-teratozoospermia | Asterazione di numero, motilità e morfologia |
| Criptozoospermia | Presenza di spermatozoi dopo centrifugazione |
| Necrozoospermia | Vitalità $< 58\%$ |
| Azoospermia | Assenza di spermatozoi (anche dopo centrifugazione) |
| Ipoposia | Volume seminale $< 1,5$ ml |
| Aspermia | Assenza di eiaculato |

Nel caso in cui il paziente presenti segni e sintomi tipici di infezioni del tratto urogenitale e/o lo spermioγραμμα abbia rilevato alterazioni quali ipoposia, colore giallognolo del liquido seminale, aumento di viscosità, pH alcalino, agglutinazioni e aumento di leucociti è indicata la **spermiocoltura**. Data la frequente contaminazione del campione con batteri fisiologicamente presenti nelle vie genitali e nel perineo, l'esame viene considerato positivo solo con alte cariche batteriche; nel dettaglio, per batteri comunemente coinvolti nelle infezioni del tratto

genitale, come *C. trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum*, *N. gonorrhoeae*, *E. coli* viene considerata diagnostica la soglia di 10^6 CFU, mentre per patogeni meno comuni quali *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* la soglia di 10^4 CFU. Se la spermicoltura dovesse risultare positiva è indicata una terapia antibiotica mirata, sulla base dei risultati dell'antibiogramma, e una ripetizione della spermicoltura a 3 settimane, e dello spermioγραμμα a 3 mesi. L'urinocoltura può essere utile per confermare i risultati ottenuti con la spermicoltura, o può essere indicativa delle popolazioni batteriche presenti nelle vie genito-urinarie in caso di impossibilità allo svolgimento della spermicoltura. Il campione utilizzato per l'urinocoltura è il primo mitto delle urine del mattino.

Altri esami di laboratorio utili sono lo **studio della frammentazione del DNA** spermatico, che rappresenta un fattore che incide negativamente sulla capacità fecondante indipendentemente dagli altri parametri seminali [21], e il **dosaggio ormonale**, in particolar modo di FSH, LH, testosterone, SHBG, che ci permettono di valutare l'asse ipotalamo-ipofisi-gonade.

Esami strumentali

Poi importanti gli **esami strumentali**, come l'ecocolordoppler scrotale, che ci permette di valutare nel dettaglio caratteristiche morfo-strutturali delle vie genitali, volume e struttura testicolare, alterazioni suggestive di flogosi o ostruzione degli epididimi. Permette anche di individuare lesioni neoplastiche o condizioni potenzialmente associate a neoplasie come possono essere le microlitiasi. Si è visto infatti che l'incidenza di neoplasie testicolari è più alta nella popolazione infertile rispetto alla popolazione generale [22]. L'utilizzo routinario dell'ecocolordoppler scrotale è dibattuto, ma molti autori lo raccomandano poiché è un esame sicuro, indolore, non costoso e che porta moltissime informazioni non altrimenti ottenibili, quali la misura accurata dei testicoli, eventuali diagnosi di varicoceci subclinici, e soprattutto di neoplasie testicolari. Si è visto che lo studio ecografico scrotale individua anomalie in circa il 38% dei soggetti infertili, di questi 30% dei casi avevano varicocele, 0.5% cancro testicolare [23]. Nel caso di

sospetto di patologia prostatica, delle vescichette seminali, o di agenesia del deferente può essere utile un approfondimento con un'ecografia transrettale, più sensibile, ma considerata un esame di secondo livello data la sua invasività.

Screening genetico

I pazienti infertili sono spesso portatori di anomalie genetiche per cui è importante, specie in presenza di azoospermia o grave oligozoospermia e di aborti ricorrenti effettuare un'analisi del cariotipo, che ci permette di individuare aneuploidie e traslocazioni non bilanciate (che si traducono in aneuploidie nel feto). Occorre anche studiare microdelezioni del cromosoma Y, che non risultano dall'analisi del cariotipo. [24]

Citologia testicolare

Infine, per distinguere definitivamente le azoospermie/oligozoospermie severe di natura ostruttiva da quelle di natura secretiva risulta utile l'esame citologico testicolare eseguito mediante agoaspirazione.

TRATTAMENTO

A volte alcune coppie, anche se in assenza di trattamento, ottengono spontaneamente una gravidanza. Gli studi hanno dimostrato come circa il 23% delle coppie non trattate ottiene una gravidanza dopo 2 anni, e circa il 33% dopo 4. Anche in pazienti con severa oligozoospermia non trattati si è visto l'ottenimento di una gravidanza nel 7.6% dei casi dopo in 2 anni [25].

Nel trattare pazienti infertili è innanzitutto fondamentale consigliare di adottare uno stile di vita sano. Consigliare quindi al paziente di smettere di fumare, di limitare o meglio eliminare il consumo di alcolici, di perdere peso in caso di sovrappeso/obesità, di eliminare l'utilizzo di droghe e di limitare in generale l'assunzione di farmaci. Sarebbe poi importante limitare l'esposizione a metalli pesanti e pesticidi (esposizione che si verificano generalmente in ambiente lavorativo) [26][27].

Terapia medica

Antiossidanti: Esistono varie formulazioni di antiossidanti (coenzima Q10, N-acetilcisteina, acido folico, zinco, vitamina E, acido ascorbico, selenio, carnitina e licopene) che vengono generalmente prescritte a pazienti con oligoastenoteratozoospermia idiopatica, in virtù dell'evidenza sperimentale del danno indotto agli spermatozoi da parte delle specie reattive dell'ossigeno, ma le evidenze a sostegno dell'efficacia del trattamento sono attualmente limitate.

FSH: la terapia con FSH (umano o ricombinante) è sempre indicata in caso di ipogonadismo ipogonadotropo. Il suo utilizzo può essere esteso anche ai pazienti eugonadici affetti da oligoastenoteratozoospermia in cui siano state escluse cause ostruttive di infertilità e nei quali non sia presente un danno tubulare documentato da un'elevazione dei valori ematici di FSH [18].

Ulteriori terapie: antiestrogeni (tamoxifene e clomifene) e inibitori dell'aromatasi (letrozolo, anastrozolo) hanno mostrato un'efficacia limitata e non sono considerati, al momento, farmaci di I linea, mentre gli androgeni non hanno mostrato alcun beneficio [18].

Terapie chirurgiche

Varicocelelectomia

Da effettuare con varicocele palpabile e con assenza di altre cause individuabili, ma con benefici ancora dubbi.

Tecniche di recupero degli spermatozoi: rappresentano la terapia di scelta in tutti i casi di azoospermia, specie se di natura secretiva, e possono essere proposte in caso di criptozoospermia, necrozoospermia, aneiaculazione o ripetuti fallimenti di tentativi di fecondazione assistita con materiale prelevato dall'eiaculato. Esistono diverse metodiche, tra cui:

- Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration (MESA)/ Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration (PESA): gli spermatozoi vengono prelevati a livello epididimario, nel primo caso con un intervento chirurgico, nel secondo caso mediante agoaspirazione.
- Testicular Sperm Aspiration (TESA): il materiale viene prelevato dal testicolo, attraverso la cute, mediante agoaspirazione.
- Testicular Sperm Extraction (TESE): rappresenta una vera biopsia testicolare; dopo aver dissezionato la cute e la tonaca albuginea, viene effettuato un prelievo di tessuto testicolare contenente una sezione di tubuli seminiferi.
- MicroTESE: viene eseguita sullo stesso principi della TESE, di cui rappresenta l'evoluzione, ma con tecnica microchirurgica, che consente l'osservazione diretta dei tubuli seminiferi al momento del prelievo, con un

tasso di recupero di spermatozoi maggiore e un minor traumatismo testicolare.

Ricanalizzazione delle vie seminali Da effettuare in caso di evidenza di azoospermia ostruttiva, alternativa alle tecniche di recupero, consistono nell'utilizzo della microchirurgia per ripristinare la continuità delle vie seminali [18].

Prognosi La prognosi dell'infertilità maschile è molto varia, fondamentalmente individuale e dipende prettamente dalle cause.

CAPITOLO 3

IL VARICOCELE

Definizione ed epidemiologia

Il varicocele viene definito come l'anomala dilatazione e tortuosità delle vene spermatiche nello scroto ed è una delle più frequenti cause di infertilità maschile. La prevalenza di varicocele nella popolazione generale è del 15%, mentre nella popolazione infertile sale al 35% [28].

Eziologia

L'eziologia precisa del varicocele non è nota, ma si ritiene sia multifattoriale. Tra le cause individuate descriviamo il fallimento del sistema di valvole antireflusso delle vene spermatiche che determina un flusso retrogrado nelle vene testicolari. Importante, inoltre, il diverso sbocco della vena testicolare sinistra e destra, che determina anche la differente prevalenza tra il varicocele sinistro (80-90% dei casi) e quello destro (quando descritto c'è un 30-40% di probabilità che il varicocele sia bilaterale). Infatti, la vena testicolare sinistra defluisce ad angolo retto nella vena renale, e ciò determina un deflusso sub ottimale rispetto a ciò che accade a destra, dove la vena testicolare sbocca a livello della cava. Un'altra possibile causa descritta è l'effetto "Nutcracker", determinato da un intrappolamento della vena spermatica sinistra tra la arteria mesenterica superiore e l'aorta. Ciò determina compressione e ostruzione della vena spermatica. Altre possibili cause meno frequenti sono trombosi venosa profonda, malformazioni arterovenose renali e la trombosi del plesso pampiniforme [29].

Fisiopatologia

Varie teorie sono state proposte su come il varicocele influenzi la fertilità. Il meccanismo primario sembra essere quello dell'ipertermia scrotale che si verifica nel varicocele e che danneggia sia la funzione endocrina che quella di spermiogenesi, entrambe sensibili alle temperature elevate [30]. Un altro meccanismo potenziale è il reflusso dei cataboliti surrenalici e renali [31]. Infine, anche l'aumento della pressione idrostatica nella vena spermatica e nel plesso pampiniforme può essere una causa del danno, determinando una riduzione dell'afflusso delle arteriole [32].

Diagnosi e classificazione

Il varicocele è generalmente asintomatico, a volte i pazienti possono lamentare dolore e senso di pesantezza a livello scrotale. Per la diagnosi è importante l'esame obiettivo che consiste principalmente nella ispezione e palpazione dello scroto e che ci permette di classificare, utilizzando i criteri introdotti nel 1970 da Dubin e in Amelar, il varicocele in 3 gradi. Il primo grado è palpabile solo durante manovra di Valsalva, il secondo grado è palpabile anche a riposo ed il terzo è visibile e palpabile a riposo. Il varicocele alla palpazione risulterà, come descritto anche da Dubin e Amelar stessi, come un sacchetto di vermi (bag of worms). Generalmente, il volume del testicolo è ridotto (WHO 1992) dal lato del varicocele e/o la sua consistenza è più molle. Utili poi esami strumentali, come l'ecocolordoppler e termografia volti a confermare la diagnosi e a studiare il varicocele. L'ecografia scrotale non è routinariamente indicata per porre diagnosi di varicocele. Tuttavia, se l'esame obiettivo risulta inconclusivo, l'ecografia può essere utilizzata per ulteriori chiarimenti. È stata dimostrata una sensibilità del 93% e una specificità del 93% per l'ecocolordoppler se raffrontato all'esame obiettivo. Ci sono varie classificazioni ecografiche di varicocele, la più utilizzata è quella di Sarteschi-Liguori (1993), che classifica il varicocele in 5 gradi, considerando la presenza di varicosità, sia in posizione supina che in ortostatismo, la relazione tra le vene dilatate e i testicoli, la loro dimensione, e le caratteristiche del reflusso [33].

| GRADO 1 | GRADO 2 | GRADO 3 | GRADO 4 | GRADO 5 |
|---|---|---|--|--|
| Reflusso all'emergenza scrotale solo dopo manovra di Valsalva, ipertrofia della parete venosa senza stasi | Reflusso sopra-testicolare solo dopo manovra di Valsalva, stasi venosa senza varicosità | Reflusso peri-testicolare con la manovra di Valsalva, stasi venosa senza varicosità | Reflusso spontaneo basale, aumento con la manovra di Valsalva; eventuale ipotrofia testicolare; manifeste varicosità del plesso pampiniforme | Reflusso spontaneo basale che non aumenta con la manovra di Valsalva; ipotrofia testicolare; varicocele manifesto con varicosità del plesso pampiniforme |

La venografia spermatica retrograda è generalmente considerata l'esame più sensibile per la diagnosi del varicocele. È tuttavia un esame piuttosto invasivo, motivo per il quale viene eseguito solo nel caso sia previsto contestualmente il trattamento. Si accede attraverso la vena femorale destra o la giugulare interna destra, e il catetere viene fatto avanzare sino alla vena spermatica ove viene iniettato il mezzo di contrasto. È stata riportata una sensibilità del 100%, ma ci sono un tasso considerevole di falsi positivi [34].

Infine, altra metodica è la termografia della pelle dello scroto che può essere realizzata con un'attrezzatura tele-termografica o con una camera infrarossi. L'esame viene praticato in posizione eretta. Il metodo più semplice è la termografia di contatto, che utilizza una striscia flessibile specificamente adeguata, contenente cristalli liquidi termosensibili. La modificazione del colore dei cristalli riflette la temperatura della cute sottostante. Nei soggetti normali, la temperatura della cute dello scroto non supera i 33,5 °C. Ogni aumento asimmetrico della temperatura, in caso di varicocele monolaterale, o simmetrico, deve essere

esaminato attentamente. In caso di termografia normale, la probabilità della presenza di un varicocele è bassa [35].

L'analisi del liquido seminale generalmente rivela un'oligozoospermia con una ridotta motilità degli spermatozoi (astenozoospermia) e una percentuale inferiore rispetto alla norma di spermatozoi con una normale morfologia (teratozoospermia). Di solito, la testa degli spermatozoi tende a essere allungata (teste affusolate o leptoforni) e il segmento intermedio può essere allargato a causa della presenza di una goccia di citoplasma.

Gli esami di laboratorio possono evidenziare una concentrazione relativamente bassa di testosterone che corrisponde a una secrezione alterata di cellule di Leydig. Livelli elevati di FSH, invece, indicano un deficit della funzione delle cellule di Sertoli [35].

Indicazioni al trattamento

Secondo le linee guida del practice committee of American Society for Reproductive Medicine (ASRM), il trattamento del varicocele, in un partner maschile di una coppia che sta cercando di ottenere una gravidanza, andrebbe considerato se sono presenti tutte o la maggiore parte di queste condizioni: varicocele palpabile, infertilità di coppia assenza di un fattore femminile di infertilità o presenza di un fattore femminile trattabile e, infine, alterazione dei parametri seminali. Inoltre, il trattamento del varicocele potrebbe essere considerato anche in uomini adulti con alterazioni allo spermioγραμμα che non stanno tentando di avere una gravidanza ma che ne desiderano una in futuro e in pazienti con dolore e fastidio correlato al varicocele. Il trattamento del varicocele, al contrario, non è indicato in pazienti con spermioγραμμα normale o con teratozoospermia [36].

Opzioni terapeutiche L'obiettivo nel trattamento del varicocele consiste nell'interruzione del flusso della vena spermatica interna, preservando con attenzione l'arteria spermatica interna, vasi e dotti deferenziali e i vasi linfatici del funicolo spermatico. Sono stati quindi descritti vari approcci quali quelli chirurgici,

con legatura della vena spermatica, con due possibili approcci, inguinale e subinguinale, quelli microchirurgici (in cui sono utilizzati microscopi), che si sono visti migliori per tasso di successo e incidenza di ricorrenza, la chirurgia laparoscopica ed infine la scleroembolizzazione percutanea, generalmente non raccomandata come prima linea di intervento data l'alta ricorrenza di varicocele e di fallimenti terapeutici.[37]

Outcomes

Nel passato il trattamento del varicocele per il miglioramento della fertilità nell'uomo è stato un argomento dibattuto. Ciò era stato determinato da alcune metanalisi che non erano riuscite ad evidenziare la correlazione tra la correzione del varicocele e il miglioramento del tasso di gravidanze spontanee. Si è visto però recentemente, grazie ad ampi studi RCT che la correzione del varicocele è chiaramente correlata a un miglioramento dei parametri seminali e del tasso di gravidanze se paragonata al non intervento [38]. Negli studi di coorte retrospettivi e prospettici e, per i casi trattati, in alcuni studi randomizzati, il 35-40% delle coppie ottiene una gravidanza spontanea entro 12 mesi dalla terapia, mentre il 60-75% entro due anni. Questo tasso di gravidanza è circa tre volte più elevato di quello osservato nei pazienti non trattati [21]. Per quanto riguarda il dolore correlato a varicocele, si ha, dopo trattamento microchirurgico, una risoluzione completa tra il 53 e il 93% dei casi, una risoluzione parziale tra il 5 e il 20%, un fallimento tra lo 0 e il 20% [39]. Infine, la correzione del varicocele determina anche significativi aumenti di testosterone in uomini con bassi livelli prima del trattamento, motivo per il quale il trattamento del varicocele di grado elevato può essere considerato nei pazienti che soffrono di ipogonadismo [40].

CAPITOLO 4 - PARTE SPERIMENTALE

INTRODUZIONE

L'infertilità di coppia viene definita come l'incapacità di ottenere una gravidanza dopo un anno di rapporti mirati e non protetti [41] e si ritiene che circa 48 milioni di coppie e 186 milioni di individui al mondo siano interessati da infertilità [10]. Si stima che nel 20% delle coppie infertili la causa dell'infertilità sia da attribuire solamente all'uomo, e che in un 30-40% dei casi sia co-responsabile e che contribuisca quindi al mancato concepimento.[14]

Tra le cause di infertilità maschile, il varicocele ricopre un ruolo di primo piano. Il varicocele viene definito come l'anomala dilatazione e tortuosità delle vene spermatiche, ed è stato ritrovato nel 15% circa della popolazione maschile generale, ma la sua prevalenza sale al 35% nella popolazione infertile [28]. Il meccanismo patogenetico alla base dell'associazione tra varicocele e infertilità non è chiaro, ma sono state formulate diverse ipotesi per spiegare come l'espansione del plesso pampiniforme possa alterare la qualità e quantità degli spermatozoi. Sono stati quindi chiamati in causa:

- l'innalzamento della temperatura dello scroto;
- la condizione di ipossia dovuta alla stasi venosa, con conseguente aumento dei radicali liberi dell'ossigeno a livello intratesticolare;
- il reflusso di metaboliti di origine surrenalica attraverso la vena renale [42]

Tuttavia, dal momento che una cospicua percentuale di soggetti portatori di varicocele non sperimenta significativi problemi di fertilità e che spesso la diagnosi di varicocele viene posta incidentalmente, è fondamentale stabilire quali pazienti possano effettivamente beneficiare della correzione di questa condizione. A tal proposito, secondo le linee guida della Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS), la correzione del varicocele è indicata in partner di coppie subfertili e in soggetti dispermici (ossia con alterazioni dello

spermiogramma), portatori di varicocele clinico, con l'obiettivo di migliorare i parametri seminali e aumentare la probabilità di gravidanza. Risulta inoltre da prendere in considerazione nei pazienti ipogonadici e partner di coppia subfertile con l'obiettivo di incrementare il livello di testosterone ed infine, nell'adolescente, in presenza di asimmetria testicolare con ipotrofia del testicolo sinistro e con segni di sofferenza testicolare [43]

Secondo le linee guida del practice committee of American Society for Reproductive Medicine (ASRM), il trattamento del varicocele, in un partner maschile di una coppia che sta cercando di ottenere una gravidanza, andrebbe considerato se sono presenti tutte o la maggiore parte di queste condizioni: varicocele palpabile, infertilità di coppia assenza di un fattore femminile di infertilità o presenza di un fattore femminile trattabile e, infine, alterazione dei parametri seminali. Inoltre, il trattamento del varicocele potrebbe essere considerato anche in uomini adulti con alterazioni allo spermiogramma che non stanno tentando di avere una gravidanza ma che ne desiderano una in futuro e in pazienti con dolore e fastidio correlato al varicocele. Il trattamento del varicocele, al contrario, non è indicato in pazienti con spermiogramma normale o con teratozoospermia [36].

Condizione a parte, che al momento non rientra tra le indicazioni al trattamento per mancanza di evidenze sufficientemente robuste, è il varicocele subclinico. Il varicocele subclinico si definisce come varicosità delle vene del plesso pampiniforme che non può essere diagnosticato solamente tramite l'esame obiettivo ma che necessita di esami strumentali aggiuntivi, quali eco-color-doppler, termografia del testicolo e venografia spermatica [42].

A differenza del varicocele clinico, la cui classificazione utilizza i criteri introdotti nel 1970 da Dubin e Amelar, che individuano 3 gradi di severità sulla base degli elementi clinici obiettivabili (varicocele palpabile solo durante Valsalva, varicocele palpabile anche in condizioni di riposo, varicocele visibile all'ispezione), il varicocele subclinico può essere classificato solo utilizzando la scala di Sarteschi/Liguori. Quest'ultima, che utilizza l'ausilio dell'ecocolordoppler testicolare, il varicocele in 5 gradi, considerando la presenza di varicosità, sia in posizione supina che in ortostatismo, la relazione tra le vene dilatate e i testicoli, la loro dimensione, e le caratteristiche del reflusso [33].

Dal momento che il varicocele subclinico rappresenta un'entità di difficile gestione nell'ambito dell'inquadramento diagnostico delle coppie affette da infertilità, l'obiettivo del nostro studio è quello di studiare l'effetto del varicocele subclinico sulla fertilità maschile.

MATERIALI E METODI

Pazienti

I pazienti sono stati arruolati tra le coppie affette da infertilità primaria afferenti all'Ambulatorio Andrologico della Clinica di Endocrinologia (Dipartimento di scienze cliniche e molecolari) dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona nel periodo compreso tra novembre 2020 e novembre 2021. Tutti i partecipanti sono stati sottoposti alle indagini di primo livello previste nel percorso diagnostico-terapeutico dell'infertilità maschile. Sono stati esclusi dall'analisi soggetti che presentavano quadri di azoospermia e/o anomalie genetiche (es. cariotipo 47, XXY e microdelezioni del cromosoma Y).

Scopo dello studio

Scopo del presente studio è stato quello di valutare gli aspetti clinici associati all'infertilità maschile, con particolare riferimento alla presenza di varicocele subclinico, in una popolazione di soggetti affetti da alterazioni seminali di vario grado.

Outcome primario: analizzare l'impatto delle forme subcliniche di varicocele sulle caratteristiche cliniche, ecografiche, seminali e ormonali dei pazienti affetti da infertilità primaria.

Outcome secondario: descrivere la correlazione tra fattori di rischio noti per infertilità maschile e i dati clinici, ecografici, seminali ed ormonali dei soggetti arruolati.

Disegno dello studio

Il presente studio ha un disegno trasversale. Per ogni paziente sono stati raccolti i dati ottenuti tramite la consultazione dei referti dell'Ambulatorio Andrologico della Clinica di Endocrinologia (Dipartimento di scienze cliniche e molecolari) dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona. Dai referti sono stati estrapolati i seguenti dati: età, mesi di infertilità, anni della partner, dati clinici (peso, altezza, BMI, pressione arteriosa, abitudine tabagica, consumo di alcolici e storia di pregresso abuso di sostanze stupefacenti), parametri ecografici (volume testicolare destro, volume testicolare sinistro, dimensioni ed ecostruttura di epididimi e tratto prossimale del dotto deferente, eventuale varicocele destro, eventuale varicocele sinistro), parametri seminali (volume, pH, concentrazione spermatica, conta spermatica, motilità progressiva, motilità totale, percentuale di spermatozoi con morfologia tipica, secondo le indicazioni del manuale WHO 2010) e parametri ormonali (FSH, LH, Testosterone totale, SHBG, PRL).

Analisi statistica dei dati

L'analisi statistica è stata effettuata con il software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Le variabili continue sono state sottoposte, qualora non risultasse evidente dalla rappresentazione grafica mediante istogramma e/o grafico di normalità, a test di normalità di Shapiro-Wilk. In caso di normalità, le distribuzioni sono state descritte in termini di media e di deviazione standard; altrimenti, sono state utilizzate la mediana e lo scarto interquartile. Il confronto tra gruppi è stato effettuato, in caso di normalità, mediante t-test per campioni indipendenti o ANOVA a una via, a seconda del numero dei gruppi valutati, mentre in caso di distribuzioni non normali sono stati utilizzati il test U di Mann-Whitney e il test di Kruskal-Wallis (per confronti tra 2 o più gruppi, rispettivamente). Infine, le correlazioni bivariate sono state indagate mediante test di Pearson o test di Spearman (scelti sulla base della normalità o meno della distribuzione). Valori di $p < 0,05$ sono considerati statisticamente significativi.

RISULTATI

Sono stati esaminati e arruolati 59 soggetti affetti da infertilità primaria (età media $40,9 \pm 7,0$ anni). I dati clinici sono riassunti in tabella 1.

| N° pazienti= 59 | Media \pm DS, n (%) |
|----------------------------------|---|
| Età (anni) | $40,9 \pm 7,0$ |
| Età partner (anni) | $34,2 \pm 5,5$ anni |
| Durata infertilità (mesi) | $29,3 \pm 23,1$ mesi |
| Peso (Kg) | $82,2 \pm 10,9$ |
| Altezza (cm) | $175,3 \pm 15,6$ |
| BMI (Kg/m²) | $26,2 \pm 3,1$ |
| PAS (mmHg) | $122,7 \pm 9,4$ |
| PAD (mmHg) | $75,0 \pm 7,6$ |
| Fumo | 17/54 (31,5 %) |
| Alcol | 36 / 59 (61,0%) |
| Stupefacenti | 3 / 59 (5,1%) |

Tabella n.1: caratteristiche cliniche dei soggetti esaminati

Dei 59 pazienti arruolati, 46 avevano eseguito un'ecografia scrotale. I dati completi sono riportati in tabella 2.

| N° pazienti= 46 | | Media ± DS, n (%) | | Valori normali | |
|---|-----------|---------------------|-----------|----------------|--|
| Volume testicolare destro (ml) | | 15,0 ± 4,3 | | > 12,0 | |
| Volume testicolare sinistro (ml) | | 14,2 ± 4,02 | | >12,0 | |
| Volume testicolare medio (ml) | | 14,6 ± 3,9 | | >12,0 | |
| Ecostruttura testicolo destro | | | | | |
| • Omogeneo | | 38 (82,6%) | | | |
| • Leggermente disomogeneo | | 8 (17,4%) | | | |
| • Moderatamente disomogeneo | | 0 (0%) | | | |
| Ecostruttura testicolo sinistro | | | | | |
| • Omogeneo | | 84,8 | | | |
| • Leggermente disomogeneo | | 13,0 | | | |
| • Moderatamente disomogeneo | | 2,2 | | | |
| Epididimo destro – caput (mm) | | 9,6 ± 2,1 | | <12,0 | |
| Epididimo destro – corpus (mm) | | 3,1 ± 0,8 | | <6,0 | |
| Epididimo destro – cauda (mm) | | 3,3 ± 0,9 | | <6,0 | |
| Epididimo destro – disomogeneità (si) | | 0 (0%) | | | |
| Epididimo sinistro – caput (mm) | | 10,0 ± 3,1 | | <12,0 | |
| Epididimo sinistro – corpus (mm) | | 3,4 ± 0,9 | | <6,0 | |
| Epididimo sinistro – cauda (mm) | | 3,3 ± 0,9 | | <6,0 | |
| Epididimo sinistro – disomogeneità (si) | | 0 (0%) | | | |
| Dotto deferente destro (mm) | | 3,3 ± | | <6,0 | |
| Dotto deferente sinistro (mm) | | 3,6 ± | | <6,0 | |
| Varicocele destro | n (%) | Varicocele sinistro | n (%) | | |
| Grado 0 | 38(84.4%) | Grado 0 | 17(37.8%) | | |
| Grado 1 | 4(8.9%) | Grado 1 | 1(2.2%) | | |
| Grado 2 | 1(2.2%) | Grado 2 | 3(6.7%) | | |
| Grado 3 | 2(4.4%) | Grado 3 | 15(33.3%) | | |
| Grado 4 | 0(0%) | Grado 4 | 9(20%) | | |
| Grado 5 | 0(0%) | Grado 5 | 0(0%) | | |

Tabella n.2: dati ecografici dei soggetti esaminati

Dei 46 soggetti sottoposti ad ecografia scrotale, 9 (20,0%) presentavano un varicocele clinico, 17 (37,8%) non presentavano segni di reflusso patologico a livello del plesso venoso pampiniforme, mentre 19 (42,2%) presentavano un quadro di varicocele evidenziabile solo ecograficamente.

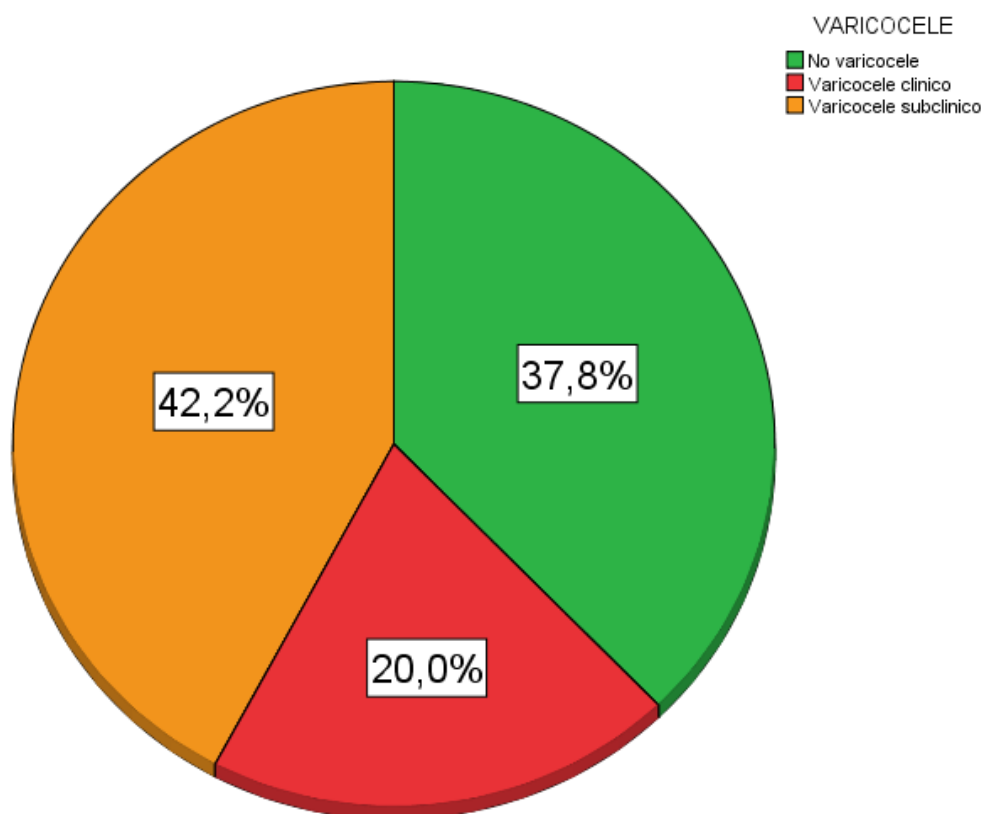


Grafico n.1: prevalenza di varicocele nella popolazione esaminata

Tutti i pazienti arruolati avevano eseguito almeno un esame del liquido seminale. Di questi, 25 (42,4%) presentavano oligozoospermia, 49 (83,1%) astenozoospermia e 12 (20,3%) teratozoospermia. Queste tre alterazioni (oligoastenoteratozoospermia) erano contemporaneamente presenti in 12 soggetti (20,3%). I parametri seminali sono presentati in tabella 3.

| N° pazienti= 59 | Media ± DS, Mediana (IQR) |
|------------------------------------|----------------------------------|
| Volume (ml) | 2,3 ± 0,7 |
| pH | 7,5 ± 0,2 |
| Concentrazione (milioni/ml) | 21,0 (7,0-43,0) |
| Numero (milioni) | 42,0 (16,8-93,8) |
| Motilità progressiva (%) | 6,0 (1,0-12,0) |
| Motilità totale (%) | 21,0 (9,0-35,0) |
| Total Motile Sperm Count (milioni) | 881,60 (8,40-2639,0) |
| Atipie (%) | 7,0 (4,0-8,0) |

Tabella n.3: parametri seminali dei soggetti esaminati

Infine, i risultati delle indagini ormonali sono stati raccolti per 49 pazienti e riportati in tabella 4.

| N° pazienti= 49 | Media ± DS | |
|-----------------------------|-------------------|-----------|
| FSH (mIU/ml) | 5,9± 4.0 | 1,4-16,0 |
| LH (mIU/ml) | 4,2± 2.0 | 1,3-9,0 |
| Testosterone totale (ng/ml) | 4,4± 1,3 | 2,70-11,0 |
| SHBG (mmol/l) | 39,2± 16,5 | 14,5-48,4 |
| Prolattina (ng/ml) | 8,6± 4,9 | 2,0-17,0 |

Tabella n.4: valori ormonali dei soggetti esaminati

L'analisi bivariata dei dati non ha mostrato correlazione tra dati clinici e parametri seminali, eccetto che per una debole correlazione positiva tra altezza dei soggetti e volume di liquido seminale ($\rho=0,328$; $p=0,021$); è emersa una moderata correlazione positiva tra età e valori di PAS ($\rho=0,397$; $p=0,009$) e PAD ($\rho=0,394$; $p=0,01$), come prevedibile.

Inoltre, la concentrazione di spermatozoi nel liquido seminale ha mostrato una forte correlazione con la motilità totale ($\rho=0,772$; $p<0,001$), la motilità progressiva

($\rho=0,752$; $p<0,001$) e la percentuale di spermatozoi tipici ($\rho=0,665$; $p<0,001$). Sia FSH e LH hanno mostrato una significativa correlazione negativa con il volume testicolare medio ($\rho=-0,371$; $p=0,01$ e $\rho=-0,412$; $p=0,007$) (Grafico 2).

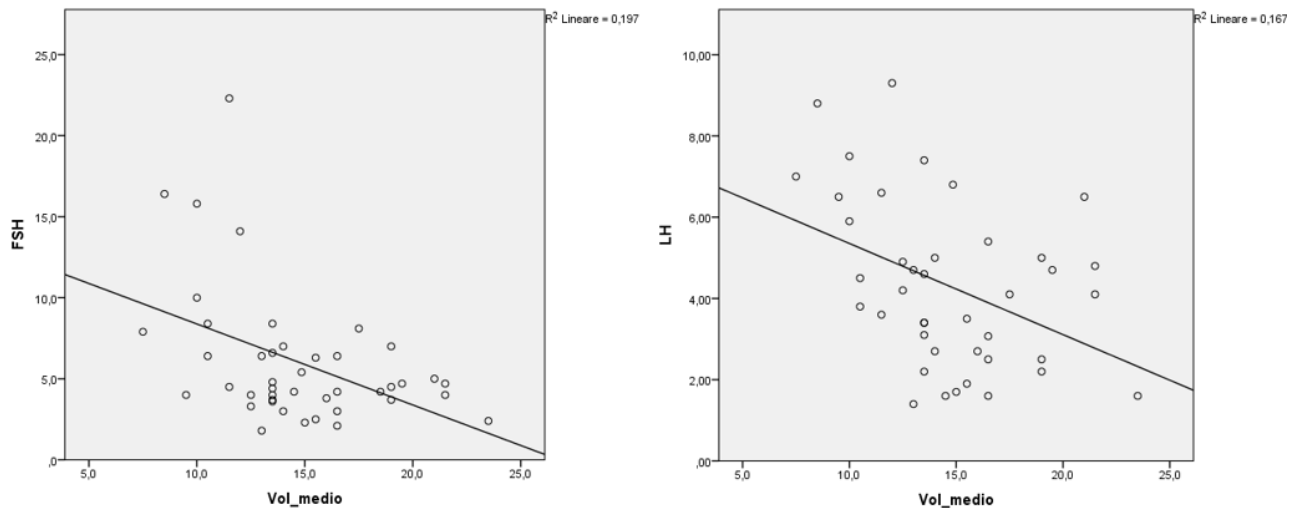


Grafico n.2: grafico a dispersione, relazione tra volume testicolare e livelli di FSH e LH

Successivamente, abbiamo suddiviso la nostra popolazione in base alla presenza o meno di varicocele, distinguendo inoltre le forme cliniche da quelle subcliniche.

Per quanto riguarda i parametri clinici, non sono emerse differenze significative tra i diversi gruppi (tabella 5)

| | No varicocele (n=17) | Varicocele subclinico (n=19) | Varicocele clinico (n=9) | p |
|------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------------|------|
| Età (anni) | 42,5 ± 8,3 | 40,0 ± 7,0 | 40,9 ± 6,7 | n.s. |
| Età partner (anni) | | | | n.s. |
| Durata infertilità (mesi) | | | | n.s. |
| Peso (Kg) | 83,4 ± 14,2 | 83,8 ± 11,8 | 81,3 ± 6,2 | n.s. |
| Altezza (cm) | 175,7 ± 6,24 | 173,1 ± 26,3 | 179,2 ± 6,0 | n.s. |
| BMI (Kg/m ²) | 26,9 ± 3, | 26,3 ± 4,0 | 25,4 ± 2,5 | n.s. |
| PAS (mmHg) | 121,7 ± 6,5 | 122,5 ± 6,2 | 126,0 ± 15,0 | n.s. |
| PAD (mmHg) | 78,0 ± 7,4 | 73,8 ± 7,1 | 75,6 ± 8,2 | n.s. |

Tabella n.5: caratteristiche cliniche dei soggetti suddivisi per classe di varicocele

Andando ad analizzare i dati ecografici, abbiamo rilevato una lieve differenza nel volume testicolare, inferiore nei soggetti con varicocele subclinico (grafico 3). Tuttavia, tale differenza non appare statisticamente significativa (tabella 6).

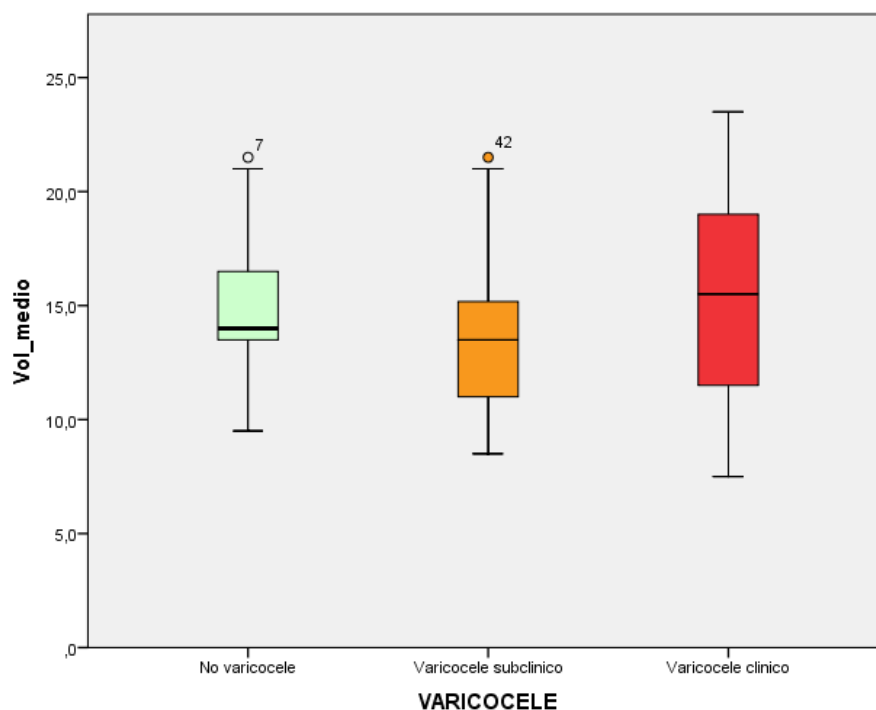


Grafico n.3: box-plot, volume testicolare medio nelle diverse classi di varicocele

| | No varicocele (n=17) | Varicocele subclinico (n=19) | Varicocele clinico (n=9) | p |
|----------------------------------|-------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------|
| Volume testicolare destro (ml) | 14,9 ± 3,9 | 14,2 ± 3,9 | 16,1 ± 5,9 | n.s. |
| Volume testicolare sinistro (ml) | 15,0 ± 3,5 | 13,4 ± 4,3 | 14,1 ± 4,4 | n.s. |
| Volume testicolare medio (ml) | 14,9 ± 3,5 | 13,8 ± 3,7 | 15,1 ± 5,0 | n.s. |
| Epididimo destro – caput (mm) | 9,6 ± 1,9 | 9,9 ± 2,5 | 9,0 ± 1,3 | n.s. |
| Epididimo destro – corpus (mm) | 3,4 ± 0,8 | 2,9 ± 0,7 | 3,1 ± 0,8 | n.s. |
| Epididimo destro – cauda (mm) | 3,3 ± 0,8 | 3,5 ± 1,1 | 3,0 ± 0,8 | n.s. |
| Epididimo sinistro – caput (mm) | 9,3 ± 1,6 | 11,2 ± 4,2 | 9,1 ± 1,9 | n.s. |
| Epididimo sinistro – corpus (mm) | 3,6 ± 1,1 | 3,1 ± 0,9 | 3,4 ± 0,7 | n.s. |
| Epididimo sinistro – cauda (mm) | 3,5 ± 1,2 | 3,1 ± 0,7 | 3,2 ± 1,0 | n.s. |
| Dotto deferente destro (mm) | 3,6 ± 0,9 | 3,1 ± 0,86 | 3,3 ± 1,2 | n.s. |
| Dotto deferente sinistro (mm) | 3,7 ± 0,9 | 3,8 ± 1,2 | 3,3 ± 1,3 | n.s. |

Tabella n.6: dati ecografici dei soggetti suddivisi per classe di varicocele

È emersa, invece, una significativa asimmetria nel volume testicolare, presente solo nel gruppo dei soggetti portatori di varicocele clinico (vol. dx 16,1 ± 5,9 ml versus vol. sx 14,1 ± 4,4 ml, p=0,04).

Per quanto riguarda i parametri seminali, sebbene la TMSC abbia mostrato una chiara tendenza peggiorativa in base alla presenza di varicocele subclinico o clinico (grafico 4), l'unica alterazione statisticamente significativa è risultata a carico della motilità progressiva, ridotta nei soggetti con varicocele clinico rispetto a quelli con varicocele subclinico (p=0,02) e a quelli senza varicocele (p=0.03).

| | No varicocele (n=17) | Varicocele subclinico (n=19) | Varicocele clinico (n=9) | p |
|--------------------------------|---------------------------|------------------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Volume (ml) | 2,1 (1,2-2,7) | 2,5 (2,1-2,7) | 2,7 (2,15-2,85) | |
| pH | 7,5 (7,4-7,6) | 7,4 (7,4-7,5) | 7,5 (7,45-7,8) | |
| Concentrazione (milioni/ml) | 26,0 (7,5-58,5) | 20,0 (7,0-38,0) | 13,0 (5,5-31,5) | |
| Numero (milioni) | 46,4 (17,4-85,9) | 42,0 (16,8- 67,50) | 16,8 (12,85- 53,85) | |
| Motilità progressiva (%) | 7,0 (0,5-13,0) | 6,0 (3,0-13,0) [°] | 0,0 (0,0-4,5) ^{*°} | *p=0.03 °p=0.02 |
| Motilità totale (%) | 24,0 (7,0-35,0) | 20,0 (15,0- 34,0) | 7,0 (3,0-22,5) | |
| TMSC (milioni) | 1624,0 (124,2- 2823,0) | 881,60 (184,0- 1824,0) | 154,0 (45,15- 1365,1) | |
| Tipici (%) | 7,0 (3,5-9,0) | 7,0 (5,0-8,0) | 5,0 (3,0-7,5) | |

Tabella n.7: parametri seminali dei soggetti suddivisi per classe di varicocele

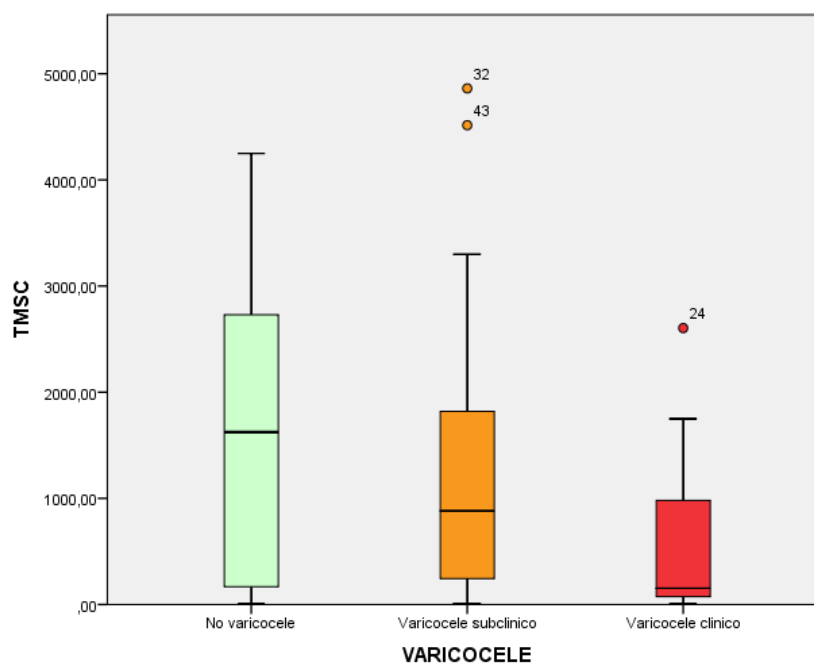


Grafico n.3: box-plot, total motile sperm count (TMSC) nelle diverse classi di varicocele

Infine, l'analisi dei valori ormonali nei soggetti affetti da varicocele subclinico ha mostrato una tendenza dell'FSH a raggiungere valori intermedi tra le altre due classi (grafico 4), ma questa differenza non si è dimostrata statisticamente significativa (tabella 8)

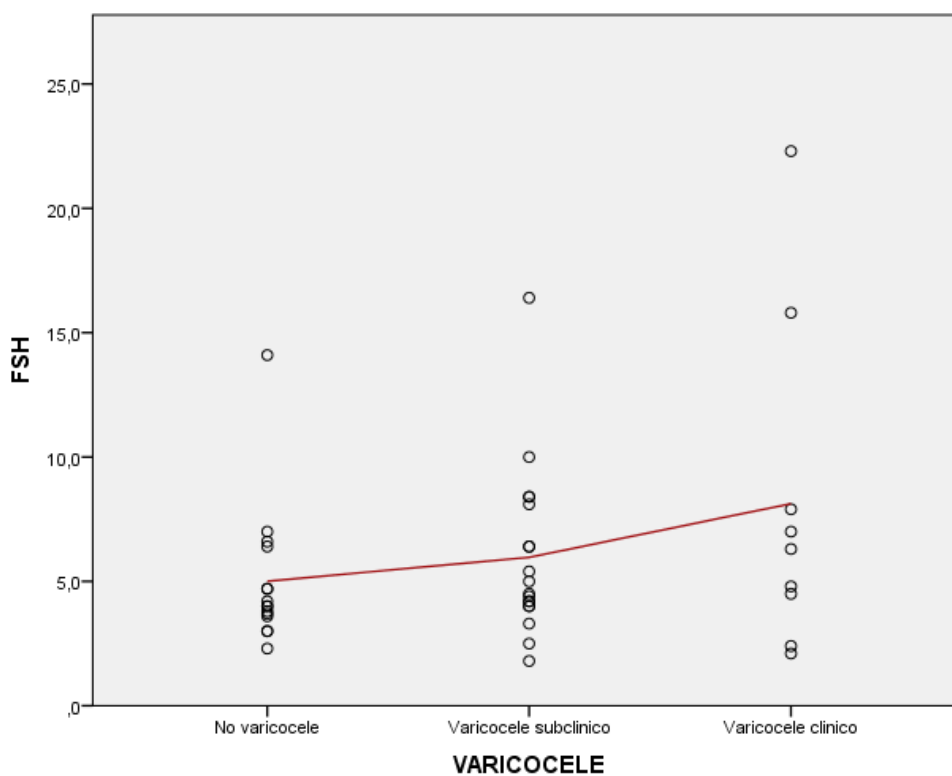


Grafico n.4 valori di FSH per classi di varicocele

| | No varicocele (n=17) | Varicocele subclinico (n=19) | Varicocele clinico (n=9) | p |
|-----------------------------|----------------------|------------------------------|--------------------------|------|
| FSH (mIU/ml) | 5,0 ± 2,9 | 6,0 ± 3,4 | 8,1 ± 6,7 | n.s. |
| LH (mIU/ml) | 4,6 ± 2,1 | 4,4 ± 2,1 | 3,9 ± 2,2 | n.s. |
| Testosterone totale (ng/ml) | 4,9 ± 1,2 | 4,6 ± 1,2 | 3,8 ± 1,6 | n.s. |
| SHBG (mmol/l) | 46,9 ± 18,8 | 40,0 ± 14,8 | 32,2 ± 17,1 | n.s. |
| Prolattina (ng/ml) | 11,3 ± 7,2 | 7,2 ± 3,0 | 6,9 ± 0,9 | n.s. |

Tabella n.8: valori ormonali dei soggetti suddivisi per classe di varicocele

DISCUSSIONE

Abbiamo condotto uno studio con l'obiettivo di valutare l'effetto del varicocele subclinico sulla funzione testicolare. Abbiamo quindi confrontato vari parametri correlati alla fertilità, tra cui dati ecografici, parametri seminali ed esami di laboratorio

In particolare, abbiamo suddiviso la nostra popolazione per classi di varicocele, evidenziando, per i pazienti con varicocele clinico, un effettivo peggioramento dei parametri seminali, in particolare per quanto riguarda la motilità progressiva, mentre nei soggetti con varicocele subclinico abbiamo osservato una tendenza al peggioramento dei parametri seminali rispetto a pazienti senza varicocele. In particolare, la concentrazione e il numero degli spermatozoi, la motilità progressiva, la motilità totale e la conta totale degli spermatozoi mobili sono risultati intermedi tra quelli rilevati nei pazienti senza varicocele e quelli rilevati nei soggetti con varicocele clinico.

Allo stesso modo, l'analisi dei valori ormonali nei soggetti affetti da varicocele subclinico ha mostrato una tendenza dell'FSH a raggiungere valori intermedi tra le altre due classi. Tale dato risulta particolarmente interessante in quanto i livelli di FSH correlano in modo inversamente proporzionale con il volume testicolare, rappresentando un indice affidabile di danno dei tubuli seminiferi e di salute delle cellule di Sertoli.

Sebbene la maggior parte delle alterazioni rilevate non abbia raggiunto la significatività statistica, la convergenza degli stessi risultati, ottenuti da fonti diverse, suggerisce la presenza di varicocele subclinico possa associarsi a danno testicolare. I nostri dati appaiono in linea con quelli di Chen e collaboratori, che hanno descritto un'aumentata incidenza di anomalie ecografiche e seminali nei soggetti affetti da varicocele subclinico [44]. Inoltre, la letteratura attuale sembra concordare sul fatto che la correzione del varicocele subclinico potrebbe portare a un miglioramento dei parametri seminali (in particolar modo miglioramento statisticamente significativo della motilità progressiva), come descritto da diversi autori [42, 45, 46]. Secondo lo studio di Cantoro e collaboratori, infatti, la correzione del varicocele subclinico porterebbe anche a un miglioramento del tasso di gravidanze spontanee in modo simile a quanto avviene per la correzione

del varicocele clinico [42]. Tale risultato, tuttavia, non appare condiviso dalle metanalisi di Kim e collaboratori [46] e Kohn e collaboratori [45]. Gli autori concordano tutti, però, sulla necessità di ulteriori studi, in particolar modo rivolti ad individuare i risultati clinici (benefici sul tasso di gravidanza) della correzione del varicocele subclinico, che attualmente non è indicata dalle linee guida. Dal momento, infatti, che la maggiore diffusione delle tecniche di indagine non invasive, con l'introduzione dell'ecografia scrotale nella routine diagnostica dell'infertilità di coppia, ha favorito e continuerà a favorire, in futuro, le diagnosi di queste forme subcliniche di varicocele, sono necessari ulteriori studi per stabilire quale sia l'approccio terapeutico più indicato a questa condizione, onde evitare il rischio di over-diagnosis e di over-treatment.

Nonostante i nostri risultati lascino supporre un possibile danno testicolare nei pazienti portatori di varicocele subclinico, le differenze emerse per i parametri esaminati non sono risultate statisticamente significative. Supponiamo che ciò sia dovuto alla scarsa numerosità del campione selezionato. Un'ulteriore limitazione, comune a questi tipi di indagine, è nei parametri "surrogati" di fertilità (ormonali e seminali), che non sempre correlano direttamente col principale obiettivo del trattamento di una coppia infertile, che è il numero di gravidanze ottenute. Appare quindi necessario confermare questi dati con studi più ampi, e, soprattutto, investigare se la correzione del varicocele subclinico possa determinare effettivamente un aumento del tasso di gravidanze spontanee.

CONCLUSIONI

La presenza di varicocele subclinico potrebbe associarsi a un deterioramento della funzione testicolare. Sono necessari ulteriori studi per definire l'effettivo peso del varicocele subclinico quale fattore maschile di infertilità e per stabilire l'utilità della diagnosi e della correzione di questa condizione.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Anastasi, G. et al. *Trattato di Anatomia Umana*. Milano : Edi.Ermes, 2006.
- 2) Standring , S. . *Anatomia del Gray*. [a cura di] T. et al. Barni . Milano : Elsevier, 2008. Vol. 2.
- 3) Conti , F. et al. . *Fisiologia Medica*. Milano : Edi.Ermes, 2010. Vol. 2.
- 4) <https://www.siams.info/asse-gnrh-gn-testicolo/>
- 5) Fraietta R, Zylberstejn DS, Esteves SC. Hypogonadotropic hypogonadism revisited. 2013
- 6) Foresta C. Infertilità maschile, fisiopatologia, clinica, diagnostica e terapia. 2009
- 7) Faiman C. Male hypogonadism. Cleveland Clinic Continuing Education 2012
- 8) World Health Organization (WHO). International Classification of Diseases, 11th Revision (ICD-11) Geneva: WHO 2018
- 9) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
- 10) Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, et al. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. PLoS Med 2012;
- 11) Boivin J, Bunting L, Collins JA, et al. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. Human reproduction (Oxford, England) 2007;22(6):1506-12. doi: 10.1093/humrep/dem046
- 12) <https://www.iss.it/infertilit%C3%A0-e-pma/-/categories/4559913>
- 13) https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_notizie_2083_listaFile_itemName_0_file.pdf

- 14) Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985 Dec 14;
- 15) Sengupta P, Dutta S, Krajewska-Kulak E. The Disappearing Sperms: Analysis of Reports Published Between 1980 and 2015. *Am J Mens Health*. 2017 Jul;
- 16) Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*. 1992 Sep 12
- 17) Shih KW, Shen PY, Wu CC, Kang YN. Testicular versus percutaneous epididymal sperm aspiration for patients with obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Transl Androl Urol*. 2019 Dec;
- 18) Dario Giuliano, *Endocrinologia e malattie del metabolismo*;
- 19) Patrizio P, Asch RH, Handelin B, Silber SJ. Aetiology of congenital absence of vas deferens: genetic study of three generations. *Hum Reprod*. 1993 Feb;
- 20) WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen FIFTH EDITION;
- 21) Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2008 Dec;
- 22) Raman JD, Nobert CF, Goldstein M. Increased incidence of testicular cancer in men presenting with infertility and abnormal semen analysis. *J Urol*. 2005 Nov;
- 23) Pierik FH, Dohle GR, van Muiswinkel JM, Vreeburg JT, Weber RF. Is routine scrotal ultrasound advantageous in infertile men? *J Urol*. 1999 Nov;
- 24) Preoperative screening for genetic abnormalities in men with nonobstructive azoospermia before testicular sperm extraction. *J Urol*. 1998 Dec;
- 25) Matorras R, Diez J, Corcóstegui B, Gutiérrez de Terán G, García JM, Pijoan JI, Rodríguez-Escudero FJ. Spontaneous pregnancy in couples waiting for artificial

insemination donor because of severe male infertility. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1996 Dec;

26) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Smoking and infertility: a committee opinion. Fertil Steril. 2018 Sep;

27) Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. Reprod Biol Endocrinol. 2013 Jul;

28) Jarow JP. Effects of varicocele on male fertility. Hum Reprod Update. 2001 Jan-Feb;

29) Leslie SW, Sajjad H, Siref LE. Varicocele. 2022 Feb 14;

30) Scrotal temperature and semen quality in men with and without varicocele. Ali JI, Weaver DJ, Weinstein SH, Grimes EM Arch Androl. 1990;

31) Cohen MS, Plaine L, Brown JS. The role of internal spermatic vein plasma catecholamine determinations in subfertile men with varicoceles. Fertil Steril. 1975;

32) Alsaikhan B, Alrabeeah K, Delouya G, Zini A. Epidemiology of varicocele. Asian J Androl. 2016 Mar-Apr;

33) Bertolotto M, Cantisani V, Drudi FM, Lotti F. Varicocoele. Classification and pitfalls. Andrology. 2021 Sep;

34) Masson P, Brannigan RE. The varicocele. Urol Clin North Am. 2014 Feb;

35) W.-B. Schill • F. H. Comhaire • T. B. Hargreave (Eds.) Andrologia clinica

36) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine; Society for Male Reproduction and Urology. Report on varicocele and infertility: a committee opinion. Fertil Steril. 2014Dec;

- 37) Johnson D, Sandlow J. Treatment of varicoceles: techniques and outcomes. *Fertil Steril*. 2017 Sep;
- 38) Ficarra V, Crestani A, Novara G, Mirone V. Varicocele repair for infertility: what is the evidence? *Curr Opin Urol*. 2012 Nov;
- 39) Shridharani A, Lockwood G, Sandlow J. Varicocelectomy in the treatment of testicular pain: a review. *Curr Opin Urol*. 2012 Nov;
- 40) Elzanaty S, Johansen C. Microsurgical Subinguinal Varicocele Repair of Grade II-III Lesions Associated with Improvements of Testosterone Levels. *Curr Urol*. 2017 Apr;
- 41) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2008 Nov;
- 42) Cantoro U, Polito M, Muzzonigro G. Reassessing the role of subclinical varicocele in infertile men with impaired semen quality: a prospective study. *Urology*. 2015 Apr;
- 43) <https://www.siams.info/varicocele/>
- 44) Chen SS. Significant predictive factors for subfertility in patients with subclinical varicocele. *Andrologia*. 2017 Dec;
- 45) Kohn TP, Ohlander SJ, Jacob JS, Griffin TM, Lipshultz LI, Pastuszak AW. The Effect of Subclinical Varicocele on Pregnancy Rates and Semen Parameters: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Urol Rep*. 2018 May;
- 46) Kim HJ, Seo JT, Kim KJ, Ahn H, Jeong JY, Kim JH, Song SH, Jung JH. Clinical significance of subclinical varicocelectomy in male infertility: systematic review and meta-analysis. *Andrologia*. 2016 Aug;
- 47) Leslie SW, Siref LE, Soon-Sutton TL, et al. *Male Infertility*. [Updated 2022 Feb 14]