

*Inquadramento
dell'infertilità maschile:
epidemiologia e inquadramento
diagnostico*

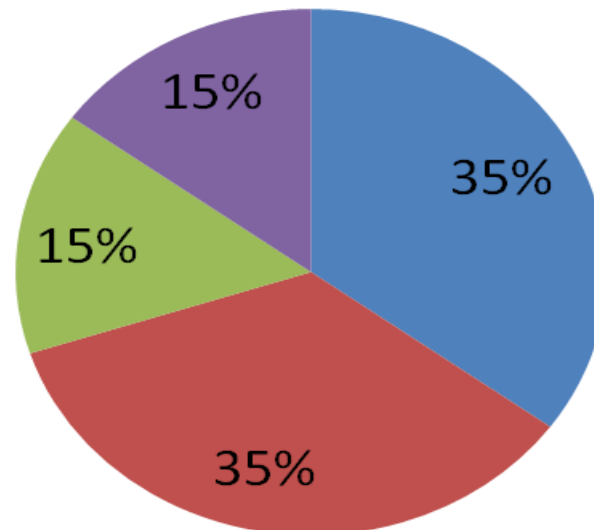
Inquadramento dell'infertilità

• **Infertilità:** assenza di gravidanza volontaria dopo almeno un anno di rapporti sessuali mirati completi non protetti

• **Prevalenza:** 15% delle coppie

Eziopatogenesi

■ fattore femminile ■ **fattore maschile**
■ infertilità di coppia ■ infertilità idiopatica



Fattori di rischio

Fattori interferenti sulla funzione gonadica nei Paesi occidentali:

- **stile di vita:** diete ipercaloriche, sedentarietà, obesità, stress psicofisico sportivo, fumo, alcol, uso di sostanze d'abuso (droghe e doping sportivo)
- **fattori ambientali:** presenza di inquinanti ambientali con effetto di “endocrine disruptors” (pesticidi, resine epossidiche, vernici...); rischi occupazionali (agricoltura, zootecnia, industria chimica, altoforni)
- **fattori socio-economici:** pianificazione della gravidanza posticipata dopo i 35 anni, con conseguente importante riduzione della riserva ovarica femminile e maggiore rischio di anomalie cromosomiche fetali e di aborto.

Classificazione

Pre-testicolari

- Ipogonadismo ipogonadotropo
- Disturbi del coito

Testicolari (75% dei casi)

- Varicocele
- Criptorchidismo
- Traumi testicolari
- Alterata produzione spermatica dovuta ad anomalie del cariotipo e a microdelezioni del cromosoma Y

Post-testicolari

- Lesioni ostruttive o subostruttive del tratto seminale
- Infezioni o malattie infiammatorie delle ghiandole accessorie
- Malattie autoimmuni

Cause pre-testicolari: ipogonadismo ipogonadotropo

Cause genetiche

- **Kallmann's syndrome** associata con anosmia e con altre anomalie non olfattive; la forma familiare è dovuta ad una trasmissione autosomica dominante o recessiva legata al cr X
- **Snd di Prader-Willi** caratterizzata anche da grave obesità, ritardo mentale; determinata dalla delezione nel cromosoma di origine paterna del braccio 15q11-13
- **Snd di Laurence-Moon-Biedi** in cui si associano retinite pigmentosa, obesità e polidattilia
- **Ipogonadismo ipogonadotropo congenito**, geneticamente eterogeneo (cause sconosciute nel 60% dei casi)

Fenotipo: pubertà ritardata e vari sintomi correlati (habitus enucoide, ginecomastia, piccolo volume testicolare). Talvolta solo un ipoandrogenismo "mild" che porta a diagnosi tardiva

Cause pre-tesicolari: ipogonadismo ipogonadotropo

Cause acquisite

- Tumori o trattamenti ablativi
- Adenomi secernenti o non secernenti
- Deficit isolato di LH (eunuco fertile) caratterizzato da bassi livelli di LH con FSH nella norma
- Ipofisite autoimmune
- Cause soppressive: abuso di steroidi anabolizzanti, terapia con testosterone e disfunzione ipotalamica dovuta all'utilizzo di oppiacei

Fenotipo: pochi sintomi come ridotto volume dell'eiaculato, diminuzione della libido ed astenia

Cause pre-testicolari: ipogonadismo ipogonadotropo

DIAGNOSI

- Bioumorale → Bassi valori di LH, FSH e testosterone. In caso di adenoma ipofisario secernente GH o PRL: aumento di GH IGF1 o PRL
- Imaging → RMN o CT cerebrale e ipofisaria

TRATTAMENTO

- Gonadotropine → efficace nell'incrementare i parametri seminali e frequentemente il concepimento naturale

Cause pre-testicolari: disturbi del coito

Rara causa di infertilità

- **Disfunzione erettile**

Importante escludere cause organiche come problemi neurologici o vascolari

Terapia → PDE5 inibitori

- **Aneiaculazione o Eiaculazione retrograda**

Diagnosi eiaculazione retrograda: assenza di spermatozoi nel liquido seminale ma presenza nelle urine dopo masturbazione

Terapia → tecniche di PMA

Cause testicolari

- **Varicocele**

Ectasie dei vasi del plesso pampiniforme presenti nel 10-15% dei maschi adulti e nel 25% dei maschi infertili. Nella maggior parte dei casi coinvolge il testicolo sinistro dove la vena spermatica confluisce nella renale ad angolo retto.

Diagnosi → esame clinico o con ecoDoppler

Terapia → tecniche di correzione chirurgica/scleroterapica nei casi indicati

- **Criptorchidismo**

Può essere congenito o acquisito; come difetto congenito è il più frequente, può essere isolato o in associazione ad altre anomalie congenite.

Incidenza 2-9% alla nascita, si riduce all'1-2% dopo i 3 mesi di età per la discesa testicolare spontanea

Diagnosi → esame obiettivo e/o con ausilio di RM

Terapia → correzione chirurgica entro i 2 anni di età

- **Torsione testicolare**

Torsione spontanea del testicolo sul funicolo con dolore ischemico in sede addominale e scrotale

Diagnosi → clinica e ecografica che mostra assenza del flusso arterioso

Terapia → detorsione manuale o chirurgica (entro 4 ore dall'insorgenza)

Cause testicolari

Fattori genetici

- Alterazioni del cariotipo → 0.4% della popolazione. Snd. Di Klinefelter (47 XXY)
- Microdelezioni del cromosoma Y → braccio lungo, regione AZF; 10% negli azoospermici non ostruttivi e 3-5% negli oligozoospermi idopatici. Valore prognostico prima di eseguire la biopsia testicolare; nel caso di completa delezione di AZFa o AZFb l'esame bioptico non è raccomandato in quanto la possibilità di trovare spermatozoi è nulla
- PAIS (insensibilità parziale agli androgeni): sindrome legata al cromosoma Xq11-12; quadro clinico che va dalla sola infertilità fino alla femminilizzazione. Si ritrova ne 2-3% dei soggetti con azospermia o oligospermia severa

Cause testicolari: diagnosi

Diagnosi

→ Esame seminale: danno severo della spermatogenesi:

→ Dosaggio FSH: se > 8 mIU/L e volume testicolare ridotto (< 15 ml): verosimile danno tubulare severo. Se FSH normale e volume testicolare normale, possibile danno tubulare moderato .

Non esistono valori assoluti di FSH o di volume testicolare per predire la presenza/assenza di spermatozoi

→ Ecodoppler scrotale: utile in caso di varicocele o di sospetto tumore scrotale. Il riscontro di microlitiasi testicolare pone indicazione all'esecuzione dei markers tumorali e necessita di monitoraggio periodico (autopalpazione)

Cause post-testicolari ostruttive

- Ostruzione intratesticolare (15%)
 - Congenite: cisti
 - Acquisite: post-infettive o post-traumatiche
- Ostruzione epididimaria
 - Congenite: associate a mutazioni
 - Genetiche: con agenesia/disgenesia di tratti dell'epididimo
 - Acquisite: flogosi (N. gonorrhoeae o Chlamydia trachomatis) o esiti di interventi
- Ostruzione dei vasi deferenti
 - Congenite: assenza congenita bilaterale dei deferenti
 - Acquisite: vasectomia, aderenze post-chirurgiche
- Ostruzione dei dotti eiaculatori
 - Congenite: cisti prostatiche (mulleriane)
 - Acquisite: post-chirurgiche o post-infettive (uretroprostatiti)

Cause post-testicolari non ostruttive

- Infezioni ghiandole accessorie
 - Uretriti, prostatiti, vescicoliti, epididimiti, orchiti
- Cause neoplastiche
- Infertilità immunologica
 - Presenza di anticorpi anti-spermatozoi presenti sulla superficie del gamete maschile rilevati tramite metodo diretto (MAR test) o nel sangue mediante test indiretto (GAT)
 - in < 5% dei maschi infertili

Cause post testicolari

Diagnosi

- Basso volume di eiaculato (il 90% origina dalle vescichette seminali e dalla prostata)
- Se pH e viscosità elevate: prostatite o ostruzione del dotto eiaculatore per cisti prostatica
- Se leucociti > 1 milione/ml causa infiammatoria (i patogeni più comuni sono Enterococco, E. coli e Ureoplasma)

Esami bioumorali e strumentali: FSH ed ecografia scrotale normale

Esame colturale microbiologico (spermiogramma)

Esame obiettivo scrotale può rilevare l'assenza dei vasi deferenti

Esame liquido seminale: volume < 1 ml con ph acido e assenza di spermatozoi o di cellule immature

Workup diagnostico di I Livello

Quando indagare?

- In caso di coppia infertile (rapporti liberi senza gravidanza) da almeno 12 mesi
- Valutazione più precoce, entro 6 mesi di tentativi, in caso di storia medica o obiettività positive per patologie potenzialmente causa di infertilità o per età della partner > 35 anni

Inquadramento iniziale:

- Anamnesi
- Esame obiettivo
- Spermiogramma

Anamnesi

Cosa chiedere ?

- Malattie pregresse (con particolare riferimento alle patologie genitali e dello sviluppo)
- Abitudini di vita (fumo di sigarette, cannabis e altre sostanze)
- Attività lavorativa (esposizione a fonti di calore, sostanze tossiche etc)
- Attività fisica/sedentarietà
- Malattie familiari e la presenza di problemi riproduttivi in consanguinei
- Farmaci
- Vita sessuale per valutazione di eventuali disfunzioni o inadeguatezza nei rapporti

- Anamnesi ginecologica della partner

Esame obiettivo

Cosa valutare?

Un EO accurato consente di individuare la maggior parte delle patologie scrotali, compreso varicocele, spermatocele, assenza dei vasi deferenti, indurimenti epididimari, e masse testicolari.

- Stato, volume e posizione dei testicoli (orchidometro di Prader. Volume totale dei testicoli = parametro diagnostico)
- Stato delle vie seminali (epididimi e dotti deferenti) del funicolo (eventuale presenza e grado di varicocele)
- Stato del pene
- Palpazione della prostata solo in caso di sintomatologia flogistica del tratto urinario

Esame seminale

Spermiogramma (secondo criteri WHO 2021)

- Normale (limiti inferiori di riferimento):

Volume	1.4 mL
conc.	16×10^6 spermatozoi/mL
n tot	39×10^6 spermatozoi/eiaculato
Motilità progressiva	30%
Morfologia	4%

- Alterato:

- oligozoospermia: concentrazione di spermatozoi < 16 milioni/mL
 - criptoospermia < 1 milione
- Azoospermia: assenza di spermatozoi anche dopo es del centrifugato
- astenoospermia: < 30% motilità progressiva
- teratoospermia: < 4% forme normali

Lo spermiogramma non è indice di fertilità della coppia!!

Workup diagnostico di II livello

Workup

Se l'anamnesi e l'esame obiettivo non evidenziano cause di infertilità e se il risultato dello spermogramma è nei limiti dei parametri WHO 2021, un solo esame è sufficiente e non vengono consigliati ulteriori step diagnostici

Se anamnesi e obiettività sono positivi o se lo spermogramma evidenzia anomalie **in almeno 2 esami**, sono indicate ulteriori valutazioni diagnostiche

- Valutazione endocrina
- Ecografia scrotale e prostatica
- Esame urine post eiaculazione
- Test seminali specialistici
- Valutazione genetica

Valutazione endocrina

Indicata se:

1. Oligozoospermia Infertilità associata a disfunzioni sessuali
2. Presenza di reperti clinici suggestivi di endocrinopatia

Valutazione iniziale

- Dosaggio di FSH e T totale

Approfondimento se T ridotto (< 300 ng/mL)

- T tot, T free, SHBG, LH, PRL, albumina
- La correlazione tra T, LH, FSH e PRL aiuta a capire l'origine dei livelli ridotti di T
- Un livello elevato di FSH in presenza di OAT indica chiaramente un danno tubulare.
- Un dosaggio del TSH può essere richiesto se sospettata una alterazione della funzione tiroidea
- La inibina B è stata proposta come marker della spermatogenesi. La inibina B è significativamente bassa in uomini infertili e correlerebbe meglio del FSH con i parametri seminali (ma costi elevati e pochi laboratori che la dosano)

Analisi delle urine post eiaculazione

Quando ?

Un volume ridotto o una aneiaculazione anterograda suggeriscono una raccolta incompleta, una retroeiaculazione, una mancanza di emissione, una ostruzione dei dotti eiaculatori, un ipogonadismo o una CBAVD

- L'analisi delle urine post eiaculatorie deve essere eseguita per volumi < 1.0mL
- Eccetto per i casi diagnosticati come ipogonadismo o CBAVD
- Escludere raccolte inappropriate, incomplete o con astinenza molto breve (< 1 giorno)

Tecnica:

- centrifugare le urine per 10 minuti a 300g
- Esame microscopico del pellet a 400x
- In uomini con azoospermia o aspermia, la presenza di spermatozoi nelle urine post eiaculatorie suggerisce una eiaculazione retrograda
- In uomini con oligozoospermia e ridotto volume dell'eiaculato deve essere osservato un "numero significativo" di spz per sostenere la diagnosi di eiaculazione retrograda (non vi è consenso sul numero minimo di spz)

Diagnostica ecografica

Benchè molti specialisti pratichino l'esame ecografico come completamento dell'esame obiettivo, all'atto della prima visita, l'esame è indicato solo in un numero ridotto di uomini infertili.

Ecografia scrotale:

- Nel sospetto varicocele (varicocele sospetto ma non palpabile)
- Miglior definizione diagnostica di masse apparenti
- Malposizionamento dei testicoli (posizione scrotale alta)
- Ipoplasi della sacca scrotale
- Uomini con infertilità e rischio cancro (storia di criptorchidismo, precedenti tumori testicolari, familiarità per tumori testicolari)

Ecografia transrettale (TRUS):

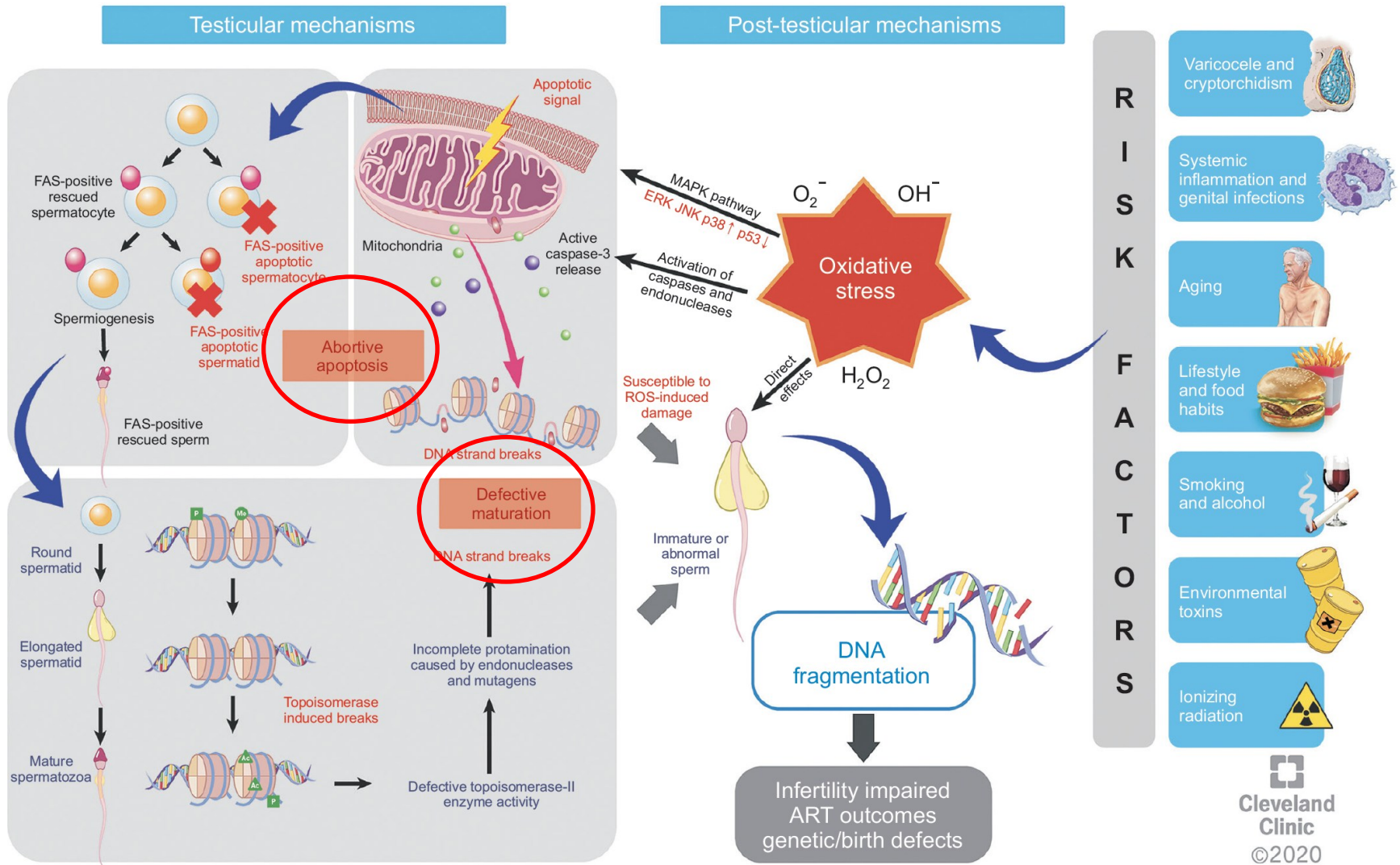
- Le vescicole seminali sono usualmente <1.5 cm (diametro antero-posteriore). La TRUS può rilevare una dilatazione delle vescicole o del dotto eiaculatorio o cisti prostatiche ma non è in grado di stabilire se l'ostruzione sia parziale o completa
- Uomini con CBAVD spesso hanno vescicole seminali assenti o ipotrofiche .
- Uomini con ostruzione parziale dei dotti eiaculatori spesso hanno ipoposia e OAT

Test seminali di II livello

Da riservare per quei casi nei quali i risultati possono orientare il trattamento.

- **Conta dei leucociti:** uomini con piospermia vera (>1 milione/mL) dovrebbero essere valutati per escludere infezioni del tratto genitale. Richiedere spermicoltura e PCR per intracellulari (Clamidia, Micoplasma e Ureaplasma)
- **Test per ricerca anticorpi anti spermatozoi (ASA):** in casi di astenozoospermia isolata o agglutinazione. Fattori di rischio: traumi, torsioni, biopsia, orchiti, cancro del testicolo, vasectomia. Il test ASA non è indicato qualora sia programmata una ICSI.
- **Test di frammentazione del DNA:** Il danno del DNA dello spermatozoo può verificarsi a causa di fattori intrinseci, come il deficit di protamina e le mutazioni che influenzano la compattazione del DNA, o da fattori estrinseci, come calore, radiazioni e gonado-tossine.

Test seminali di II livello



Test seminali di II livello

Assay	Principle	Type of damage detected	Pros	Cons
TUNEL	Labeling of free break ending 3-OH DNA	SSB/DSB	High sensitivity and reliability Minimal inter-observer variability Evaluation by both fluorescent microscopy and flow cytometry Analysis of both fresh and frozen samples	Protocols and thresholds are still not standardized Expensive equipment and trained personnel required
Comet	Single cell electrophoretic separation	SSB and/or DSB	High sensitivity Correlation with semen parameters Possibility to discriminate between SSB and DSB	Poor repeatability High inter-observer variability Variable protocols and thresholds Time-consuming Evaluation of a low number of cells Appropriate imaging software required
SCSA	Evaluation of DNA integrity by using the meta-chromatic acridine orange	SSB/DSB	Simultaneous examination of a large number of cells Highly repeatability Analysis of frozen or fresh samples	Commercial kits not available Expensive equipment and trained personnel required
SCD or Halosperm test	Evaluation of the dispersed chromatin ("halo") after lysing treatment	SSB/DSB	Commercial kits available Repeatable and consistent results in 45 minutes No expensive equipment required Easy to perform	Inter-observer variability

- Non ci sono cutoff uniformi per i vari test
- 20% cutoff: piu utilizzato

Test seminali di II livello

EAU

Sperm DNA fragmentation testing should be performed in the assessment of couples

- with **recurrent pregnancy loss** (RPL) from natural conception and ART
- men with **unexplained infertility**

Recommendation: Strong

AUA/ASRM

Sperm DNA fragmentation analysis is not recommended in the initial evaluation of the infertile couple.

For couples **with RPL**, men should be evaluated with karyotype (Expert Opinion) and sperm DNA fragmentation.

(Moderate Recommendation; Evidence Level: Grade C)

Test seminali di II livello

ESHRE guidelines on RPL

Assessing sperm DNA fragmentation **in couples with RPL** can be considered for explanatory purposes, based on indirect evidence

Conditional ⊕⊕○○

EAA management of OAT

Sperm DNA integrity could be applied in addition to standard semen analysis in following cases (1○○○○):

- When it is considered whether the couple should be referred for ART or given additional time for trying achieving spontaneous pregnancy;
- When intrauterine insemination with partner's spermatozoa (artificial insemination by husband—AIH) is considered;
- When standard in vitro fertilization (IVF) or intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) is considered

Test seminali di II livello

Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis

Ying-Jun Wang, Rong-Qiu Zhang, Yan-Jun Lin, Rong-Gui Zhang, Wei-Li Zhang *

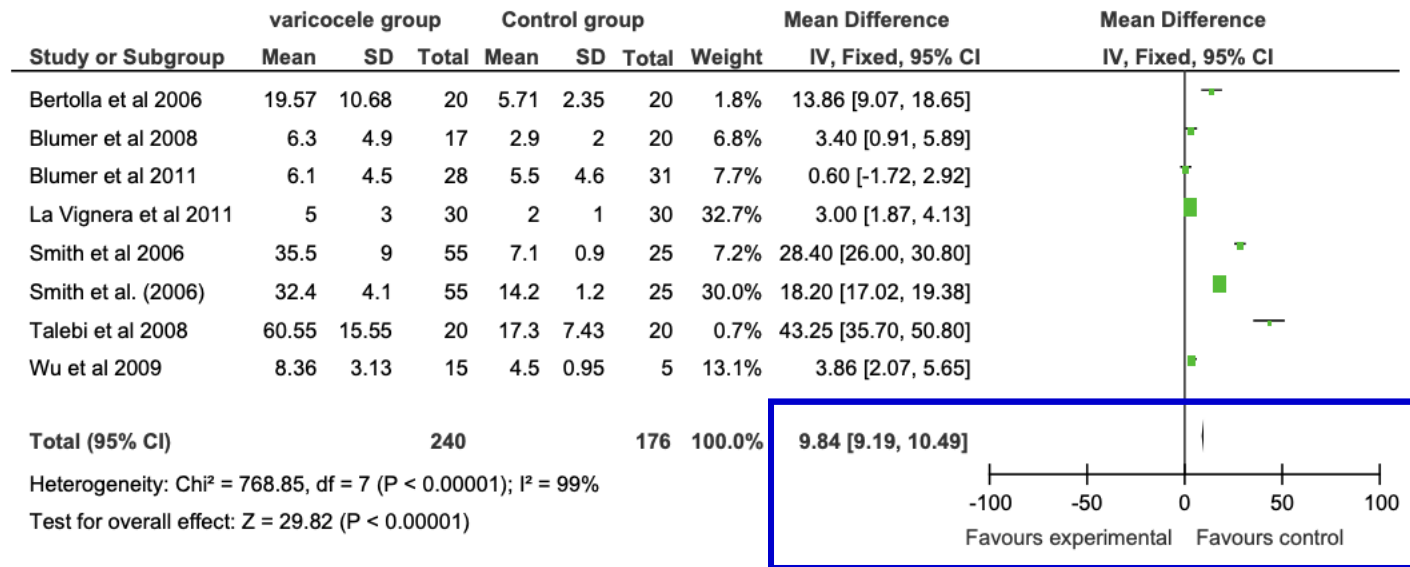


Figure 2 Forrest plot of meta-analysis on the concentrations of sperm DNA damage in varicocele patients compared with donors.

Test seminali di II livello

- **Elevato SDF si associa a:**

Maggior rischio di aborti spontanei e ricorrenti

Ridotta probabilità di gravidanza spontanea e assistita

Maggiore probabilità di anomalie genetiche del nascituro

Test seminali di II livello

- **Sperm penetration assays:** può rilevare difetti nella capacità fertilizzante dello sperma e potrebbe identificare i pazienti che trarrebbero beneficio dall'applicazione dell'ICSI. Scarso valore clinico.
- **Reazione acrosomiale:** la reazione acrosomiale degli spermatozoi può essere rilevata con l'uso di tecniche di colorazione specifiche. Spermatozoi di uomini infertili hanno livelli di reazione acrosomiale spontanea più alti ma livelli più bassi in presenza di induttori.
- **Dosaggio delle sperm creatine kinase e delle reactive oxygen species (ROS).** I ROS sono generati sia da leucociti seminali che dalle cellule spermatiche e possono interferire con la funzione spermatozoaria mediante perossidazione delle membrane lipidiche e creazione di perossidi di acidi grassi tossici.
- **Test di selezione spermatica per ICSI:** procedure usate per identificare spermatozoi di qualità migliore per ICSI. Ma i vari test usati (**hyaluronic acid binding, membrane maturity testing, apoptotic evaluation**, e il magnified sperm examination) hanno ad oggi una limitata utilità clinica e non influenzano il trattamento

Test genetici

Quando?

- Uomini con NOA o OS (oligozoospermia severa: <5 milioni / ml) sono a maggior rischio di avere un'anormalità genetica.

Quali test?

- Cariotipo
 - Ricerca di microdelezioni del cromosoma Y
 - Ricerca di mutazioni del gene per la fibrosi cistica
-
- Una consulenza genetica è indicata in caso di sospetta o rilevata anomalia genetica nel partner maschile o femminile

Test genetici su seminale

Sperm chromosome aneuploidy

- l'aneuploidia dello spermatozoo può essere valutata mediante la tecnologia di ibridazione in situ.
- Fino al 6% degli uomini infertili con normale cariotipo hanno alterazioni meiotiche rilevabili nei loro spermatozoi
- Uomini con maggiore rischio di aneuploidia spermatica sono quelli con alterazioni del cariotipo, grave teratozoospermia, NOA, ISG ricorrente.
- In questi pazienti il test è indicato ma l'utilizzo routinario di questa tecnologia è limitata dal costo, dall'impossibilità di esaminare lo spermatozoo selezionato per la ICSI e dalla difficoltà di assegnare una valutazione del rischio significativa alle coppie sulla base dei risultati del test

Conclusioni riassuntive

- La valutazione iniziale di screening del partner maschile di coppia infertile è indicata in tutti casi di infertilità primaria (mancata gravidanza dopo 12 mesi di rapporti non protetti o dopo 6 mesi se la partner femminile ha > 35 anni)
- Valutazione più precoce se presenti specifici fattori di rischio per l'infertilità
- La valutazione iniziale (I livello) deve essere specialistica e comprendere
 - anamnesi medica e riproduttiva
 - esame obiettivo
 - spermioγραμμα
- Solo se presenti anomalie in questi 3 ambiti è indicato un approfondimento diagnostico (II livello) mediante test specifici
 - Test endocrini
 - Ecografia
 - Esame urine post eiaculazione
 - Test seminali specialistici
 - Test genetici



Grazie per l'attenzione!