

LINEE GUIDA SU: LA AZOOSPERMIA

Parte Seconda : Terapia

Giovanni M. Colpi ¹(coordinatore)
Carlo Bettocchi ², Giorgio Franco ³,
Ermanno Greco ⁴,
Luciano Negri ¹, Andrea Ortensi ⁵.

- 1. Servizio di Andrologia, Ospedale San Paolo – Polo Universitario, Milano**
- 2. Cattedra di Urologia I, Policlinico, Università di Bari**
- 3. Dipartimento di Urologia “U. Bracci”, Università “La Sapienza”, Roma**
- 4. Centro di Medicina Riproduttiva, European Hospital, Roma**
- 5. Unità di Microchirurgia, III Clin. Chirurgica, Università “La Sapienza”, Roma**

Indice

AZOOSPERMIE OSTRUTTIVE

a) Trattamenti chirurgici e strumentali finalizzati a ripristinare la fertilità naturale

- a1) Ricanalizzazione microchirurgica delle vie seminali prossimali
 - a1a) Ostruzioni dell'epididimo: epididimo-vasostomia
 - a1b) Ostruzioni del dotto deferente: vaso-vasostomia
- a2) Ricanalizzazione delle vie seminali distali
 - a2a) Resezione endoscopica dei dotti eiaculatori (TURED)
 - a2b) Disostruzione per via transrettale ecoguidata (TRUCA)
 - a2c) Seminal tract washout terapeutico

b) Prelievo chirurgico o strumentale di spermatozoi per fecondazione assistita

- b1) Testicolo
 - b1a) Testicular sperm extraction (TESE)
 - b1b) Testicular sperm aspiration (TESA) e testicular fine needle aspiration (TEFNA)
- b2) Epididimo
 - b2a) Microsurgical epididymal sperm aspiration (MESA)
 - b2b) Percutaneous epididymal sperm aspiration (PESA)
 - b2c) Epididymal sperm extraction (ESE)
- b3) Dotto deferente e vie seminali distali
 - b3a) Microsurgical vasal sperm aspiration (MVSA)
 - b3b) Distal seminal tract aspiration (DISTA)
 - b3c) Aspirazione transrettale ecoguidata di spermatozoi da cisti intraprostatiche comunicanti con i dotti eiaculatori (TRUSCA)
 - b3d) Seminal tract washout finalizzato a recuperare spermatozoi per fecondazione assistita

AZOOSPERMIE SECRETORIE

- a) Terapie mediche
- b) Il varicocele nell'azoospermia
- c) Prelievo chirurgico o strumentale di spermatozoi dal testicolo per fecondazione assistita
 - c1) Testicular sperm extraction (TESE)
 - c2) Testicular sperm aspiration (TESA) e Testicular fine needle aspiration (TEFNA)

EJACULAZIONE RETROGRADA

- a) Terapia farmacologica
- b) Recuperi di spermatozoi dalle urine come supporto alla fecondazione assistita

ANEJACULAZIONE

- a) Trattamenti etiologici
- b) Trattamenti finalizzati al recupero di spermatozoi da utilizzare per tecniche di fecondazione assistita.
 - b1) Vibromassaggio
 - b2) Elettroeiaculazione
 - b3) Seminal tract washout finalizzato a recuperare spermatozoi per fecondazione assistita

CRIOCONSERVAZIONE DI SPERMATOZOI TESTICOLARI

AZOOSPERMIE OSTRUTTIVE

Scopo della terapia delle azoospermie ostruttive è il ripristino della pervietà delle vie seminali e quindi della fertilità spontanea. La scelta del trattamento dipende dalla sede e dalle caratteristiche della lesione ostruttiva. Nei casi in cui non è possibile ripristinare la pervietà di almeno una via seminale, si può ricorrere al prelievo chirurgico o strumentale di spermatozoi da utilizzare a fresco o dopo crioconservazione per tecniche di fecondazione assistita.

TRATTAMENTI CHIRURGICI E STRUMENTALI FINALIZZATI A RIPRISTINARE LA FERTILITA' NATURALE

1. RICANALIZZAZIONE MICROCHIRURGICA DELLE VIE SEMINALI PROSSIMALI

La corretta esecuzione ed i risultati di una ricostruzione microchirurgica delle vie seminali prossimali sono affidati all'uso di strumenti speciali (microscopio operatore), di materiali di sutura non reattivi, nonché alla esperienza tecnica dell'operatore. Accanto al microscopio operatore è indispensabile anche un comune microscopio per l'esame intraoperatorio del fluido seminale aspirato, al fine di valutare la quantità e la qualità degli spermatozoi. Tale accertamento condiziona la scelta ricostruttiva del chirurgo.

L'indicazione all'intervento chirurgico è data nei seguenti casi:

- Azoospermia confermata da almeno due esami seminali recenti
- Spermatogenesi conservata almeno da un lato
- Assenza di ejaculazione retrograda
- Assenza di infezione seminale in atto.

La ricostruzione delle vie seminali prossimali è comunque subordinata alla loro pervietà distale, che viene dimostrata nella fase operatoria immediatamente precedente la fase ricostruttiva, mediante incannulamento del deferente (con ago cannula o butterfly 23-25 G) ed iniettando almeno 10 ml di soluzione (fisiologica e/o colorante).

In base al tipo ed al livello dell'ostruzione sono state nel corso degli anni perfezionate diverse tecniche di ricostruzione delle vie seminali.

OSTRUZIONI DELL'EPIDIDIMO: EPIDIDIMO-VASOSTOMIA

Le tecniche attualmente più raccomandata in base ai risultati riportati dalla letteratura sono la tubulovasostomia termino-terminale¹ o latero-terminale², e quelle di invaginazione del tubulo epididimario nel lume deferenziale^{3,4}.

Prima di procedere alla epididimo-vasostomia o quando l'anastomosi non sia realizzabile è opportuno aspirare e crioconservare spermatozoi epididimari da utilizzare per ICSI in caso di fallimento dell'anastomosi. In alcuni casi la ricomparsa degli spermatozoi nell'eiaculato avviene a distanza di un anno dall'intervento. Il tasso di ricanalizzazione varia dal 60-87%, e le gravidanze spontanee variano tra il 10% e il 43%⁵⁻⁸. In una quota oscillante tra il 10%⁹ e il 21%⁶ si osserva la chiusura dell'anastomosi a distanza di tempo. Tra i fattori prognostici negativi si segnalano la presenza di una patologia secretoria testicolare, la assenza di spermatozoi nel tubulo epididimario o la presenza di fibrosi diffusa dell'organo. Di recente è stato segnalato che la presenza di anomalie ecografiche delle vie seminali distali sono elementi prognostici sfavorevoli per i tassi di successo della ricanalizzazione microchirurgica¹⁰. La epididimo-vasostomia in pazienti con ostruzione epididimaria secondaria a vasectomia risulta più vantaggiosa in termini di costi e gravidanze rispetto alla MESA con ICSI¹¹.

Note di tecnica

L'epididimo viene aperto nel punto dove è evidente la dilatazione tubulare dovuta all'ostacolo, comunque il più caudalmente possibile. Il liquido che fuoriesce dall'epididimo viene immediatamente sottoposto ad un esame microscopico per valutare la presenza e la motilità degli spermatozoi. Se tale accertamento dovesse risultare negativo, si effettuerà l'apertura di un tubulo più prossimale.

Nel caso si intenda effettuare una tubulovasostomia termino-terminale, dopo incisione trasversale della tunica vaginale dell'epididimo, si deve scegliere il tratto del tubulo seminale

contenente spermatozoi, che servirà quindi per confezionare l'anastomosi con il deferente. Poiché il calibro del tubulo epididimario sezionato è comunque differente rispetto a quello del deferente, in seguito alla sutura potrà crearsi un effetto di stenosi sull'anastomosi stessa. Una tubulovasostomia latero-terminale sembra evitare tale pericolo, senza peraltro maggior impegno. Sotto ingrandimento ottico (40x) del campo visivo, al centro di una finestra precedentemente preparata nella tunica vaginale dell'epididimo, si apre una spira tubulare in senso longitudinale e la si anastomizza con il deferente con due punti in Prolene 8-0, che da ciascun angolo della spira comprendono nel loro passaggio l'orlo della tunica vaginale epididimaria e la parete del deferente a tutto spessore. Per evitare fuoriuscite di fluido con spermatozoi e quindi la formazione di granulomi, si possono apporre punti più superficiali ed alla fine "stagnare con colla di fibrina". La spira epididimaria può essere anastomizzata con il deferente anche in "doppio strato". Per lo strato mucoso con il tubulo epididimario si può utilizzare un filo in Vycril 11-0. Per lo strato esterno con la tunica si può utilizzare un Prolene 9-0.

La "triangulation vasoepididymostomy"³ consiste nell'apporre 3 punti di sutura 10-0 in nylon (filo dotato di doppio ago Sharpoint™) sul tubulo epididimario, in modo che ogni sutura rappresenti un lato di un triangolo. Il tubulo viene quindi inciso all'interno del triangolo con la punta tagliente di un ago da sutura. Si procede quindi a suturare il deferente passando ogni singolo filo con doppio ago nello strato mucosa-muscolare (*dentro-fuori*), ottenendo una invaginazione del tubulo epididimario nel lume deferenziale (anastomosi con 6 punti). Lo strato muscolare-avventiziale del dotto deferente viene quindi suturato alla vaginale epididimaria con 4 fili in nylon 9/10-0.

Marmar (2000)⁴ ha descritto di recente una variante tecnica che consiste nell'apporre solo due doppi punti di sutura ottenendo un'ulteriore riduzione dei tempi operatori (anastomosi su 4 punti effettivi). La percentuale di ricanalizzazione delle vie seminali con le tecniche microchirurgiche di invaginazione oscilla tra il 77% e il 92%.

OSTRUZIONI DEL DOTTO DEFERENTE: VASO-VASOSTOMIA

Le ostruzioni dei deferenti conseguenti alla vasectomia o, più raramente, ad una incorretta deferentovesiculografia possono essere nella maggior parte dei casi trattate con successo.

Per contro, nelle lesioni più distali dei deferenti, conseguenti usualmente ad erniotomia bilaterale (solitamente eseguite nella prima infanzia), i monconi deferenziali sono spesso mal individuabili nel contesto del tessuto cicatriziale. Pertanto è necessario ricorrere ad un'ampia

mobilizzazione dei monconi, sia prossimalmente che distalmente prima di confezionare l'anastomosi.

Il diametro esterno del dotto si mantiene costante in seguito all'ostruzione, mentre il suo calibro interno, nel versante testicolare, si dilata di circa 2-4 volte. Il moncone distale può evolvere verso la sclerosi cicatriziale.

Le condizioni per il successo dell'anastomosi sono:

- l'uso del microscopio operatore
- la buona qualità dei tessuti coinvolti nell'anastomosi
- la presenza e le caratteristiche del fluido che fuoriesce dal moncone prossimale del dotto
- la pervietà della via seminale distale
- la durata dell'ostruzione

I tassi di ricanalizzazione estrapolati dalle maggiori casistiche (in totale 2385 casi trattati)¹²⁻¹⁵ oscillano tra l'86% e il 93%, mentre i tassi cumulativi di gravidanza spontanea oscillano tra il 52% e l'82%.

La durata dell'ostruzione condiziona sensibilmente i tassi di successo della vasovasostomia. Quando l'intervallo tra l'ostruzione e la ricanalizzazione è inferiore a 3 anni, la pervietà e le gravidanze spontanee si ottengono rispettivamente nel 97% e nel 76% dei casi; quando è compreso tra 3 ed 8 anni, rispettivamente nell'88% e nel 53%; quando è compreso tra 9 ed 14 anni, rispettivamente nell'71% e nel 30%.

Le ostruzioni deferenziali distali risultano spesso incorreggibili¹⁶. In questi casi si può ricorrere alla aspirazione di spermatozoi dal moncone prossimale del deferente^{17,18}, oppure se è presente una concomitante ostruzione epididimaria, alla MESA¹⁹ o alla TESE²⁰ (si vedano i capitoli relativi). Differenti tipi di spermatocele artificiale sono stati utilizzati in passato con risultati modesti²¹.

Note di tecnica

La ricostruzione del deferente può essere confezionata in "doppio strato" o in "strato unico". Nella vasovasostomia a due strati lo strato mucoso e la muscolare interna dei due monconi vengono suturati ottimalmente con 6 punti di sutura preferibilmente non riassorbibile o a lento riassorbimento 9/0-10/0, quindi la muscolare esterna e la sierosa con altri 6 punti di analoga sutura 8/0-9/0, intervallati ai primi.

Per quanto concerne invece la seconda tecnica, vengono passati almeno 6 punti che attraversano la parete del deferente, possibilmente a tutto spessore.

Conclusioni

La ricanalizzazione microchirurgica delle vie seminali prossimali deve essere sempre indicata come prima opzione terapeutica nelle azoospermie secondarie ad ostruzione degli epididimi o dei dotti deferenti. In una buona parte dei pazienti essa permette una risoluzione definitiva del problema e l'ottenimento di gravidanze spontanee, evitando il ricorso alle tecniche di fecondazione assistita ad alta tecnologia con spermatozoi prelevati chirurgicamente, caratterizzate da costi elevati ed invasività sulla partner femminile.

Le difficoltà tecniche che emergono durante gli interventi sulle vie seminali prossimali possono essere notevoli, soprattutto nei casi affetti da ostacoli multipli ed estesi (come per esempio nelle ostruzioni associate dell'epididimo e del dotto deferente), pertanto un giudizio obiettivo sui risultati risulta difficile perché

- **la qualità seminale e l'altezza dell'anastomosi sono spesso diverse nei due lati;**
- **le cause e la durata delle ostruzioni variano da paziente a paziente**
- **con il passare del tempo le tecniche ricostruttive risultano sempre più efficaci grazie ad un miglioramento delle qualità degli aghi, dei fili di sutura, degli strumenti chirurgici e dell'ingrandimento ottico**
- **la frequenza degli interventi e quindi la capacità tecnica costituiscono altre variabili.**

Le complicanze post-operatorie sono assai rare purchè si proceda ad una accurata emostasi, alla somministrazione di antibiotici e si eviti una precoce mobilitazione del paziente nei giorni successivi all'intervento.

Bibliografia

1. **Silber SJ.**
Microscopic vasoepididymostomy: specific microanastomosis to the epididymal tubule. Fertil Steril 1978, 30:565.
2. **Wagenknecht LV, Klosterhalfen H, Schirren C.**
Microsurgery in andrologic urology. I. Refertilization. J Microsurg 1980, 1:370-375.
3. **Berger RE.**
Triangulation end-to-side vasoepididymostomy. J Urol 1998, 159:1951-1953.
4. **Marmar JL**
Modified vasoepididymostomy with simultaneous double needle placement, tubulotomy and tubular invagination. : J Urol 2000, 163:483-486.
5. **Southwick GJ, Temple-Smith PD.** Epididymal microsurgery: current techniques and new horizons. Microsurgery 1988, 9:266-277.
6. **Matthews GJ, Schlegel PN, Goldstein M**
Patency following microsurgical vasoepididymostomy and vasovasostomy: temporal consideration. J Urol 1995, 154:2070-2073.
7. **Jarow JP, Oates RD, Buch JP, Shaban SF, Sigman M**
Effect of level of anastomosis and quality of intraepididymal sperm on the outcome of end-to-side epididymovasostomy. Urology 1997, 49:590-595.

8. **Kim ED, Winkel E, Orejuela F, Lipshultz LI**
Pathological epididymal obstruction unrelated to vasectomy: results with microsurgical reconstruction. *J Urol* 1998, 160:2078-2080.
9. **Jarow JP, Sigman M, Buch JP, Oates RD.** Delayed appearance of sperm after end-to-side vasoe epididymostomy. *J Urol* 1995, 153:1156-1158.
10. **Jarvi K, Zini A, Buckspan MB, Asch M, Ginzburg B, Margolis M.** Adverse effects on vasoe epididymostomy outcomes for men with concomitant abnormalities in the prostate and seminal vesicle. *J Urol* 1998; 160:1410-1412.
11. **Kolettis PN, Thomas AJ Jr.** Vasoe epididymostomy for vasectomy reversal: a critical assessment in the era of intracytoplasmic sperm injection. *J Urol* 1997, 158:467-470.
12. **Owen E, Kapila H.** Vasectomy reversal: review of 475 microsurgical vasovasostomies. *Med J Aust* 1984, 140:398-400.
13. **Soonawala FB, Lal SS.** Microsurgery in vasovasostomy. *Indian J Urol* 1984, 1:104-109.
14. **Lee HY.** A 20-year experience with vasovasostomy. *J Urol* 1986, 136:413-415.
15. **Belker AM.** Results of 1469 microsurgical vasectomy reversal by the vasovasostomy study group. *J Urol* 1991, 145:505-511.
16. **Borovikov A** Treatment of large vasal defects. In M Goldstein (ed): *Surgery of Male Infertility*. WB Saunders Co., Philadelphia, 1995: 77-95.
17. **Hirsh AV, Mills C, Tan SL, Bekir J, Rainsbury P.** Pregnancy using spermatozoa aspirated from the vas deferens in a patient with ejaculatory failure due to spinal injury. *Hum Reprod* 1993, 8:89-90.
18. **Hovatta O, von Smitten K.** Sperm aspiration from vas deferens and in-vitro fertilization in cases of non-treatable anejaculation. *Hum Reprod* 1993, 8:1689-1691.
19. **Silber SJ, Balmaceda J, Borrero C, Ord T, Asch R.** Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril* 1988, 50: 525-528.
20. **Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P.** High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod* 1995, 10:148-152.
21. **Hendry WF**
Azoospermia and surgery for testicular obstruction. In TB Hargreave (ed.): *Male Infertility*. Springer, London, 1997: 319-336.

2. RICANALIZZAZIONE DELLE VIE SEMINALI DISTALI

RESEZIONE ENDOSCOPICA DEI DOTTI EIACULATORI (TURED)

La resezione endoscopica dei dotti eiaculatori (TURED) è stata proposta nel 1973 da Farley e Barnes ¹ per la risoluzione di ostruzioni dei dotti eiaculatori (DE). Da allora diversi lavori hanno documentato la sua efficacia. Il termine comprende anche le resezioni endoscopiche di cisti prostatiche ostruenti i dotti eiaculatori, anche se impropriamente, perchè in questo caso non vengono effettivamente resecati i dotti eiaculatori ma solo la parete anteriore della cisti, facendola comunicare ampiamente con l'uretra prostatica.

Le indicazioni alla TURED sono appunto rappresentate dalle ostruzioni complete (azoospermia) ed incomplete della via seminale distale su base congenita o acquisita, dovute a atresie, stenosi cicatriziali o litiasiche dei DE o conseguenti alla presenza di cisti prostatiche comunicanti o non comunicanti con la via seminale ². Ovviamente verranno prese in

considerazione solo le problematiche relative all'impiego della TURED nei casi di azoospermia.

Fino a pochi anni fa la TURED rappresentava l'unica possibilità terapeutica nei casi di ostruzione dei DE. Recentemente, il successo delle tecniche di recupero di spermatozoi per riproduzione assistita (ICSI) e l'introduzione di nuove tecniche disostruttive (sclerotizzazione ecoguidata di cisti prostatiche, Seminal Tract Wash-out) hanno ridimensionato il suo impiego e ne hanno focalizzato le indicazioni. Questo anche per le rarissime ma pur sempre possibili conseguenze iatrogene di un intervento endoscopico a livello dell'uretra prostatica (lesioni del collo vescicale, dello sfintere striato, emorragie, perforazioni) e per alcune recenti segnalazioni in letteratura di reflusso di urine nelle vie seminali dopo TURED con possibili conseguenze sulla qualità dello sperma e sul rischio di infezione ascendente (epididimite)^{3,4}. Ciò nondimeno, la TURED deve essere ancora considerata una efficace metodica terapeutica che permette l'ottenimento di gravidanze "naturali" in una significativa percentuale di casi di azoospermia da ostruzione dei dotti eiaculatori. Da una revisione della letteratura effettuata da Vazquez-Levine et al. (1994)³, su 85 casi sottoposti a TURED, si è osservato un miglioramento dei parametri seminali nel 55% dei casi, con gravidanze spontanee nel 33%. Un'altra revisione più recente effettuata su 164 casi riportati in letteratura⁵ documenta percentuali di ricanalizzazione del 36% e di gravidanza del 26%. I pochi studi che valutano i risultati a seconda della causa di ostruzione distale sembrano dimostrare che i migliori risultati si ottengano nelle ostruzioni cistiche dei DE (sia comunicanti che non comunicanti con la via seminale) piuttosto che in quelle non cistiche (atresie, stenosi cicatriziali dei DE)^{2,6}. In quest'ultima situazione le percentuali di insuccesso o di recidiva della stenosi dopo TURED sono significative e non sempre quest'ultima è indicata o effettuabile. Infatti è necessario che il tratto pervio (dilatato) dei DE sia all'interno della prostata e non molto distante dall'uretra prostatica per poter effettuare con successo una resezione transuretrale. Nei casi di stenosi extraprostatiche, invece, saranno indicate altre terapie (STW, DISTA e altre tecniche di recupero di spermatozoi per ICSI).

Per quanto riguarda le ostruzioni cistiche dei DE, la TURED potrebbe essere impiegata in prima istanza nelle cisti comunicanti con la via seminale. In questa situazione, infatti, non è possibile effettuare una sclerotizzazione percutanea per il rischio di danneggiare le vie seminali distali, e le altre tecniche (STW, DISTA etc), che non riescono ad ottenere una disostruzione duratura o che prevedono il ricorso alla riproduzione assistita (ART), possono essere impiegate solo in caso di insuccesso della TURED. In presenza invece di cisti non comunicanti con la via seminale (Mulleriane o mediane) è indicata in prima istanza la

sclerotizzazione percutanea o transrettale ecoguidata (vedi capitolo relativo), e solo in caso di insuccesso di questa è consigliabile effettuare una TURED.

Anche in termini economici ed etici la TURED, quando trova un'appropriate indicazione, dovrebbe essere preferita alle tecniche di recupero di spermatozoi per ICSI, che comportano costi più alti per bimbo nato e la necessità di trattare anche la partner femminile.

Note di tecnica

Il paziente, previa adeguata copertura antibiotica ed in anestesia spinale o generale, viene posizionato sul lettino come per qualsiasi altro intervento endoscopico per via transuretrale. Si procede a iniezione di colorante nelle vescicole seminali, tramite puntura ecoguidata di queste per via transrettale, o nei deferenti incannulati per via scrotale. Tale manovra può essere risparmiata nei casi di TURED di cisti endoprostatiche, ma sembra essere ancora consigliabile nel trattamento di ostruzioni non cistiche nelle quali il colorante può essere di aiuto nel ritrovare i dotti eiaculatori e nel confermare la avvenuta disostruzione. Può essere utile, prima di iniziare la resezione, effettuare una compressione digitale delle vescicole seminali per via transrettale per tentare di far fuoriuscire in uretra il colorante e localizzare in questo modo lo sbocco dei dotti eiaculatori. La resezione, effettuata con ansa tradizionale o con ansa di Collins, viene effettuata subito sopra il veru montanum o, nei casi di ostruzioni non cistiche, interessando la porzione prossimale di esso. Nei casi di ostruzioni non cistiche la resezione deve continuare finché non si osservi fuoriuscire fluido biancastro o il colorante, se impiegato, dai dotti eiaculatori sezionati. Nel caso di cisti, la sua parete anteriore, una volta perforata con l'ansa, dovrà essere aperta ampiamente nell'uretra in modo da evitare la possibilità di recidiva. E' possibile effettuare la resezione sotto simultanea guida ecografica transrettale, ma non esistono dati o migliori risultati che supportino il suo impiego routinario. E' consigliabile mantenere un catetere Foley per 24-48 ore. L'aumento di volume dell'eiaculato è immediato ed è prova della avvenuta ricanalizzazione. Anche lo spermogramma di solito si rinormalizza in poco tempo con un graduale miglioramento della motilità degli spermatozoi. Un miglioramento del volume seminale accompagnato dalla persistenza dell'azoospermia deve far pensare ad un'ostruzione epididimaria secondaria, più frequente nelle ostruzioni di lunga durata, che può anche essere risolta con un successivo intervento di vasoepididimostomia. Le percentuali di successo nei casi con doppia ostruzione sono però molto basse e quindi in questi casi può essere giustificato il ricorso immediato alle tecniche di recupero di spermatozoi (MESA, PESA, TESE, TESA) per ICSI.

Conclusioni

La TURED ha ancora un ruolo importante nella terapia delle ostruzioni della via seminale distale. Infatti permette una risoluzione definitiva del problema e l'ottenimento di gravidanze spontanee in una significativa percentuale di casi, evitando in questo modo i costi e l'invasività sulla partner femminile delle tecniche di recupero di spermatozoi per ART. In particolare sembra essere indicata come prima opzione terapeutica nei casi di ostruzione da cisti comunicanti con la via seminale; e come seconda opzione nei casi di cisti non comunicanti con le vie seminali (dopo insuccesso della sclerotizzazione ecoguidata) e nei casi di ostruzioni non cistiche (quando falliscono i tentativi di ricanalizzazione con STW). La TURED non è indicata invece nei casi con ostruzione extraprostatica dei dotti eiaculatori.

Bibliografia

1. **Farley S and Barnes R.** Stenosis of the ejaculatory ducts treated by endoscopic resection. J Urol 1973, 109: 664-666.
2. **Popken G, Wetteraeuer U, Schultze-Seeman W, Deckart A, Sommerkamp H.** Transurethral resection of cystic and non-cystic ejaculatory duct obstruction. Int J Androl 1998, 21:196-200.
3. **Vazquez-Levine MH, Dressler KP, Nagler HM.** Urine contamination of seminal fluid after transurethral resection of the ejaculatory ducts. J Urol 1994, 152:2049-2052.
4. **Goluboff ET, Kaplan SA, Fish H.** Seminal vesicle urinary reflux as a complication of transurethral resection of ejaculatory ducts. J Urol 1995, 153:1234-1235.
5. **Colpi GM.** La terapia chirurgica. II Corso di aggiornamento "Il trattamento dell'infertilità maschile" Milano, 19 maggio 2000.
6. **Goluboff ET, Stifelman MD, Fish H.** Ejaculatory duct obstruction in the infertile male. Urology 1995, 45: 925-931.

DISOSTRUZIONE DELLE VIE SEMINALI DISTALI PER VIA TRANSRETTALE ECOGUIDATA (TRUCA)

La TRUCA (Trans-Rectal Ultrasonically-guided Cyst Aspiration) è una tecnica poco invasiva, indicata per aspirare le cisti intraprostatiche esercitanti una compressione estrinseca sui dotti eiaculatori ¹. Le suddette cisti sono di origine mulleriana e, non comunicando con i dotti eiaculatori, non contengono spermatozoi ². L'aspirazione della cisti e la sua eventuale sclerotizzazione ripristano temporaneamente o definitivamente la normale pervietà dei dotti eiaculatori. Tale procedura viene utilizzata in alternativa alla incisione endoscopica transuretrale della cisti mulleriana (vedi sopra).

Note di tecnica

Si utilizza una sonda transrettale biplanare da 6.5-7.5 Mhz, dotata di guida per ago Chiba 20-22 G connesso ad una siringa da 5 ml per l'aspirazione. Il trattamento è condotto con il paziente posto sul fianco sinistro, previa copertura antibiotica orale (p.e. trimetoprim 0.32 g + sulfametossazolo 1.6 g/die per os, a partire dai due giorni precedenti) e enteroclisma con Bacitracina 5000 U.I. + Neomicina solfato 50 mg un'ora prima dell'aspirazione. L'aspirazione viene effettuata con astinenza sessuale di 4-5 giorni: vanno determinati i caratteri chimico-fisici del liquido aspirato e la presenza di spermatozoi. A breve distanza dall'aspirazione il paziente viene invitato a produrre un campione seminale per analisi. Si ricontrolla subito dopo la cisti per valutare un suo eventuale immediato riempimento (in questo caso si tratta di una cisti comunicante con le vie seminali, che come tale non deve essere sclerotizzata).

A distanza di un mese si ricontrollano ancora la cisti e lo spermioγραμμα. Nel caso di recidiva di cisti non-comunicante con le vie seminali si procede a sclerotizzazione della stessa. Per la sclerotizzazione si instilla rolitetraciclina nella cisti in quantità pari a 1/10 del volume precedentemente aspirato.

La procedura consente la ricanalizzazione delle vie seminali distali nel 75% dei pazienti ^{3,4}.

Conclusioni

La semplicità di esecuzione, il basso costo, l'assenza di complicazioni, pongono la TRUCA come trattamento di prima scelta nelle ostruzioni dei dotti ejaculatori da cisti mulleriana non comunicante con le vie seminali.

Bibliografia

1. **Shabsigh R, Lerner S, Fishman IJ, Kadmon D.**
The role of transrectal ultrasonography in the diagnosis and management of prostatic and seminal vesicles cysts. J Urol 1989, 141:1206-1209.
2. **Sharlip ID.** Obstructive azoospermia or oligozoospermia due to Mullerian duct cyst. Fertil Steril 1984, 41:298-303.
3. **Colpi GM, Negri L, Scropo FI, Grugnetti C.**
Ultrasonically guided treatment of anomalies of uroseminal carrefour. In: Colpi GM & Balerna M (eds) Treating Male Infertility: New Possibilities. Karger, Basel, 1994, 187-198.
4. **Colpi GM, Negri L.**
TRUCA: casistica personale 1992-2000. Dati non pubblicati

SEMINAL TRACT WASHOUT TERAPEUTICO FINALIZZATO ALLA DISOSTRUZIONE DEI DOTTI EJACULATORI

Il Seminal Tract Washout (STW) disostruttivo appare indicato nei pazienti azoospermici o gravemente dispermici nei quali l'ecografia delle vie seminali distali (controllata prima e dopo ejaculazione) documenta una (sub-)ostruzione degli orifici dei dotti ejaculatori ¹. Tale

quadro si caratterizza per una dilatazione dei dotti lungo tutto il loro decorso (eventualmente con calcoli seminali al loro interno), associata ad una dilatazione delle vescicole seminali. Lo STW disostruttivo non è invece indicato nei pazienti che presentano all'ecografia transrettale lunghe ostruzioni post-flogistiche dei dotti eiaculatori. Lo STW disostruttivo viene eseguito con la stessa metodica descritta per lo STW finalizzato a recuperare spermatozoi da usare per fecondazione assistita (si veda il relativo capitolo). La disostruzione dell'orifizio dei dotti eiaculatori non esclude infatti l'opzione di recupero e crioconservazione degli spermatozoi presenti nelle vie seminali ostruite. Questa procedura è stata applicata da Negri et al. (1995) su 6 pazienti infertili cripto-azoospermici ², ottenendo 1 disostruzione definitiva dei dotti eiaculatori, 3 disostruzioni temporanee e 2 fallimenti. Nei pazienti sui quali la procedura era stata usata con successo, sono state ottenute 2 gravidanze spontanee ed 1 con ICSI in un paziente già azoospermico.

Sulla scorta dei risultati ottenuti è plausibile che la procedura non sia di per sé capace di mantenere dilatati in permanenza ostii eiaculatori stenotici, ma sia in grado di rimuovere coaguli di materiale seminale, ammassi di detriti cellulari flogistici o calcoli incuneatisi nel tempo nei dotti eiaculatori, permettendo quindi di conseguire comunque in alcuni casi un ripristino dello svuotamento delle vie seminali distali in corso di eiaculazione.

Conclusioni

Il Seminal Tract Washout terapeutico finalizzato alla disostruzione dei dotti eiaculatori andrebbe sempre preso in considerazione prima di intraprendere una resezione endoscopica del tratto distale dei dotti eiaculatori.

Bibliografia

1. **Colpi GM, Negri L, Patrizio P, Pardi G.** Fertility restoration by Seminal Tract Washout in ejaculatory duct obstruction. *J Urol* 1995, 153:1948.
2. **Negri L, Colpi GM, Scropo FI, Grugnetti C, Pizzocaro A, Pardi G.** Disostruzione dei dotti eiaculatori con Seminal Tract Washout. *Giornale Italiano di Andrologia* 1995, 2:51.

<p>PRELIEVO CHIRURGICO O STRUMENTALE DI SPERMATOZOI PER FECONDAZIONE ASSISTITA: TESTICOLO ED EPIDIDIMO</p>

1. TESTICULAR SPERM EXTRACTION (TESE)

La TESE consiste nell'estrazione di spermatozoi da frammenti di parenchima testicolare ottenuti tramite biopsie chirurgiche singole o multiple. Introdotta da Silber e Coll. nel 1995, inizialmente come metodica di recupero di spermatozoi per ICSI in casi di azoospermia

ostruttiva (AO), nei quali la MESA era fallita, è stata poi impiegata dallo stesso gruppo nei soggetti con azoospermia non-ostruttiva (secretoria), ampliando in questo modo enormemente il numero dei pazienti azoospermici candidati all'ICSI.

La TESE rappresenta una delle diverse opzioni di recupero di spermatozoi nei casi di AO con indicazioni più o meno simili alle altre tecniche (MESA, PESA, TESA, ESE). Trattandosi di un prelievo testicolare, ha il vantaggio, rispetto ai prelievi epididimari, di non mettere a rischio la pervietà del tubulo epididimario. Ciò può assumere importanza soprattutto nei casi di ostruzioni prossimali potenzialmente ricostruibili (nei quali l'intervento ricostruttivo resta l'unica opzione curativa *sensu strictu*) ed in particolare in quelle della via seminale distale o in casi di aneiaculazione. Nei confronti della MESA, la TESE permette un recupero di spermatozoi di numero e qualità inferiore, anche per la maggiore contaminazione ematica, ma è sicuramente più semplice non richiedendo l'uso del microscopio operatore. A suo svantaggio c'è però la perdita di una anche se pur minima quantità di parenchima testicolare. E' da considerare la soluzione ideale per recuperare spermatozoi nei rari casi ostruttivi nei quali la MESA fallisce, nel corso dello stesso intervento. E' lievemente più invasiva e complessa delle tecniche percutanee, ma rispetto a queste permette il recupero di un più congruo numero di spermatozoi, quasi sempre sufficiente per il congelamento e l'impiego in cicli successivi di ICSI. Diversi Autori ^{2,3} propongono l'effettuazione di una TESE con crioconservazione direttamente in corso di biopsia testicolare diagnostica.

Note di tecnica

La tecnica è la stessa impiegata per la biopsia testicolare diagnostica. Nei casi di AO è di solito sufficiente un unico prelievo bioptico per ottenere spermatozoi per ICSI. E' perciò consigliabile effettuare la tecnica in anestesia locale tramite infiltrazione del funicolo spermatico e della cute scrotale. E' possibile anche effettuare la procedura con la sola anestesia locale cutanea, omettendo l'infiltrazione tronculare del funicolo. L'incisione cutanea può essere mediana sul rafe, utile perchè permette un facile accesso ad entrambi i testicoli, o trasversale a seconda delle preferenze. E' consigliabile non esteriorizzare il testicolo ma effettuare la procedura con tecnica a finestra, allo scopo di minimizzare la formazione di aderenze. Si effettua quindi una piccola incisione (5 mm) sulla tunica albuginea del testicolo e si asporta una piccola quantità di parenchima testicolare che viene immediatamente lavato con mezzo di coltura e, sotto stereomicroscopio, sminuzzato e schiacciato con due vetrini sterili o due aghi da insulina in una capsula di Petri. Si otterrà così la fuoriuscita degli elementi cellulari dai tubuli seminiferi e si potrà immediatamente controllare con il

microscopio a luce invertita la presenza di spermatozoi. Il mezzo di coltura verrà quindi centrifugato ed il sedimento risospeso e nuovamente controllato per la presenza di spermatozoi. Questi verranno quindi utilizzati per ICSI o congelati ¹⁴.

2. TESTICULAR SPERM ASPIRATION (TESA) O TESTICULAR FINE NEEDLE ASPIRATION (TEFNA)

Consiste nell'aspirazione di spermatozoi dal testicolo tramite ago sottile. Nelle AO la TESA permette solitamente il recupero di un sufficiente numero di spermatozoi per effettuare l'ICSI ma raramente sufficiente per garantire un congelamento. E' quindi da ripetere ad ogni ciclo di ICSI. Ad utilizzare e promuovere questa condotta terapeutica sono diversi Autori^{5,6}, i quali ritengono che essa presenti numerosi vantaggi rispetto alle altre tecniche (semplicità, minima invasività e facile ripetibilità) ed abbia risultati sovrapponibili alle tecniche chirurgiche più complesse nei casi di OA. In generale, gli Autori che ritengono preferibile l'impiego per ICSI di sperma fresco piuttosto che congelato tendono ad utilizzare questa metodica di recupero di spermatozoi ad ogni ciclo di ICSI.

Note di Tecnica

E' normalmente effettuata in anestesia locale tramite infiltrazione del funicolo spermatico e della cute scrotale o della sola cute scrotale. Può in alternativa essere usata una breve sedazione endovenosa. Si può utilizzare una siringa con ago 20 G montata su un'impugnatura tipo Cameco⁶ o un ago Butterfly 21 G collegato ad una siringa da 20 o 50 ml ⁷. Una volta bloccato il testicolo tra il pollice e l'indice si punge lo scroto e l'albuginea del testicolo. Viene a questo punto effettuata l'aspirazione nel corso della quale l'ago viene avanzato e retratto all'interno del parenchima testicolare per una decina di volte in modo da ottenere una maggiore quantità di tessuto testicolare aspirato. Una volta estratto l'ago, il materiale aspirato verrà diluito in mezzo di coltura, con il quale può essere lavato il sistema di aspirazione. La procedura può essere ripetuta in sedi diverse del testicolo. Si procederà quindi alla ricerca ed estrazione degli spermatozoi. E' consigliabile mantenere una modesta pressione sulla sede della puntura, una volta rimosso l'ago, per facilitare l'emostasi.

3. MICROSURGICAL EPIDIDYMAL SPERM ASPIRATION (MESA)

E' stata la prima tecnica di recupero di spermatozoi per ART (Silber, 1987). Inizialmente associata alla IVF (Fecondazione in vitro), dal 1994 viene solitamente associata alla ICSI, anche se, in caso di recupero di spermatozoi di buona qualità e quantità potrebbe essere ancora giustificato il ricorso alla IVF, perlomeno per una parte degli ovociti. E' la tecnica che consente il recupero migliore in termini di quantità e qualità degli spermatozoi. Grazie alla tecnica microchirurgica è infatti possibile ridurre al minimo la contaminazione ematica e scegliere i tubuli con le caratteristiche migliori per un buon recupero di spermatozoi ¹³. Il controllo a cielo aperto dell'emostasi rende poi quasi inesistenti le possibilità di ematoma intrascrotale. Con la MESA le probabilità di recupero di spermatozoi sono superiori al 95% e quasi sempre è possibile congelare un numero sufficiente di paillettes per tutti gli eventuali cicli successivi di ICSI. Il partner maschile viene perciò sottoposto di solito ad un solo intervento. Gli svantaggi della MESA sono rappresentati dall'essere una tecnica più complessa, che richiede una manualità microchirurgica e la disponibilità di un microscopio operatore e di strumentario adeguato. I tempi ed i costi dell'intervento sono perciò più alti rispetto alle altre tecniche. Minori sono invece le differenze con le altre tecniche per quanto riguarda l'anestesia ed i tempi di degenza. Infatti, soprattutto nella variante mini-invasiva ¹⁰⁻¹², la MESA è ormai eseguita in anestesia locale con dimissione immediata del paziente. Normalmente è sufficiente l'intervento monolaterale e solo in caso di insufficiente recupero di spermatozoi è consigliabile effettuare l'intervento bilateralmente.

Note di tecnica

Tecnica tradizionale Anestesia generale o locale per infiltrazione del funicolo e della cute scrotale con assistenza anestesiológica per eventuale sedazione. Incisione mediana sul rafe, apertura della tunica vaginale, esteriorizzazione del testicolo. Sotto ingrandimento 20-30x si asporta un'asola di albuginea dalla testa dell'epididimo e si assicura l'emostasi con pinza da gioielliere bipolare. Si apre quindi il tubulo con microforbici e si aspira il liquido con agocannula 22 o 23 G montato su siringa da insulina. Una leggera pressione sull'epididimo e sul testicolo favorirà la fuoriuscita di sperma. L'aspirazione viene continuata con diverse siringhe finché è presente una fuoriuscita di liquido o fin quando il biologo che controlla i campioni ritiene che questi siano sufficienti anche per il congelamento. La chiusura del tubulo con un punto di sutura 10/0 è opzionale e sembra indicata solo nei casi con ostruzioni o situazioni potenzialmente correggibili ¹³. Nella variante proposta da Schlegel ¹⁴, invece di aprire il tubulo con le microforbici, lo si punge con una micropipetta in vetro tagliente appositamente preparata, collegata ad un sistema di aspirazione. Ciò permette di risparmiare

tempo nella ricerca della zona con spermatozoi di migliore qualità e minimizza la contaminazione ematica.

Mini-MESA¹⁰⁻¹²: in questa variante di tecnica viene effettuata una incisione a finestra di circa 1 cm come per una biopsia testicolare diagnostica. Non viene esteriorizzato il testicolo, ma solamente lussata la testa dell'epididimo da questa incisione fissandola con un punto al margine della stessa. E' sufficiente perciò una anestesia locale per infiltrazione del funicolo e della cute scrotale. La tecnica poi prosegue con le stesse modalità della tecnica tradizionale, impiegando quindi il microscopio operatore per le successive fasi dell'aspirazione di spermatozoi dai tubuli epididimari. La mancata esteriorizzazione del testicolo, oltre a ridurre il dolore avvertito dal paziente, minimizza la possibilità di aderenze chirurgiche postoperatorie.

4. PERCUTANEOUS EPIDIDYMAL SPERM ASPIRATION (PESA)

Introdotta da Craft nel 1995, ha rappresentato la prima alternativa "economica" alla MESA in pazienti con AO. Ha il vantaggio, al pari della TESA, di essere facilmente eseguibile, economica e poco invasiva. Il suo limite principale è dato dalla sua minore efficacia nel recupero di spermatozoi epididimari rispetto alla MESA. Nei diversi studi, infatti, la tecnica sembra permettere un recupero di spermatozoi in circa il 60-70% dei casi di AO rispetto al 90-95% ottenibile con la MESA. Questo è presumibilmente conseguenza della particolare situazione anatomica dei tubuli della testa dell'epididimo che, in caso di ostruzione, non sono omogeneamente dilatati e non contengono spermatozoi nella stessa quantità e della stessa qualità. Se in corso di MESA è possibile guidare l'aspirazione sui tubuli più dilatati e con più probabilità di ritrovamento di spermatozoi mobili, con la PESA ciò è affidato al caso, ed è possibile che si pungano solo tubuli privi di spermatozoi o con spermatozoi di peggiore qualità. La minore quantità e la peggiore qualità degli spermatozoi aspirati rende le possibilità di congelamento di questi per cicli di ICSI successivi nettamente più basse rispetto alla MESA. Nei confronti della TESA, invece, la PESA può permettere un migliore recupero di spermatozoi, con minore contaminazione di sangue o di altre cellule parenchimali. Comporta d'altro canto un rischio maggiore di ematoma scrotale, per la maggiore vascolarizzazione della zona della testa dell'epididimo, e di danni alla via seminale prossimale (ostruzione iatrogena del tubulo epididimario?) che la controindicano in casi di ostruzione distale, aneiaculazione o in generale nei casi potenzialmente ricostruibili. La PESA rappresenta infine la tecnica di elezione nei casi di ostruzione da o con spermatocele congenito o acquisito

dell'epididimo. In questa situazione, infatti, la tecnica permette un facile recupero di una notevole quantità di spermatozoi con una minima invasività (effettuabile senza alcuna anestesia).

Note di tecnica

Per quanto riguarda le necessità di anestesia, valgono le stesse considerazioni esposte per la TESA. E' consigliabile usare per l'aspirazione un ago tipo Butterfly 21 o 22 G collegato ad una siringa da 20 o 50 ml. L'aspirazione deve interessare la sola testa dell'epididimo e non il corpo o la coda. Si immobilizza la testa dell'epididimo tenendola ferma tra pollice ed indice e si inserisce l'ago all'interno di essa. Si aspira con la siringa e, sempre sotto leggera aspirazione, si retrae o si avanza millimetricamente l'ago fino a veder comparire nel tubo di raccordo una modesta quantità di liquido biancastro. Si mantiene l'aspirazione finchè non cessa il flusso. In casi selezionati si ottiene una discreta quantità di fluido epididimario (presenza di piccoli spermatoceci o di tubuli massivamente dilatati). Nella maggior parte dei casi, invece, le quantità aspirate sono minime ma con buona concentrazione di spermatozoi. Il fluido aspirato viene quindi diluito in mezzo di coltura ed esaminato per la ricerca di spermatozoi. In caso di mancato recupero, si procede ad altre aspirazioni cercando di pungere zone diverse della testa dell'epididimo. E' consigliabile esercitare per qualche minuto una pressione sulla testa dell'epididimo e mantenere una borsa di ghiaccio sullo scroto per minimizzare il rischio di emorragia.

5. EPIDIDYMAL SPERM EXTRACTION (ESE)

Descritta da Kim ¹⁵ anche se già utilizzata da molti Autori in modo sporadico, consiste nella asportazione chirurgica (non necessita di tecnica microchirurgica) di porzioni più o meno cospicue di testa dell'epididimo per estrazione di spermatozoi. La tecnica di estrazione è la stessa della TESE, alla quale si ispira, cioè per schiacciamento e frammentazione del pezzo in capsula di Petri. Ha il vantaggio di essere molto rapida e di non richiedere l'uso del microscopio operatore, fornendo spesso degli ottimi recuperi di spermatozoi quasi sempre sufficienti al congelamento (percentuali di fecondazione e gravidanza simili alle altre tecniche). I suoi principali svantaggi sono invece rappresentati dall'essere più invasiva, demolitiva e meno ripetibile della MESA (da riservare perciò a situazioni di ostruzione sicuramente intrattabili come la CBAVD, cioè l'agenesia congenita bilaterale dei deferenti), da un più alto rischio di danni vascolari al testicolo, e da una maggiore contaminazione

ematica del frammento da trattare. E' una valida opzione e viene quindi spesso utilizzata in corso di MESA, quando in nessuna delle sedi microaspirate si riescano a recuperare spermatozoi.

Note di tecnica

Può essere eseguita in anestesia loco-regionale o in sedazione e.v., tramite incisione scrotale mediana o a finestra si esteriorizza il testicolo o semplicemente la testa dell'epididimo. Con le forbici si separa quest'ultima dal testicolo per circa 5 mm, sezionando in questo modo alcuni dei vasi efferenti. Si taglia quindi con le forbici o con il bisturi una porzione o tutta la testa dell'epididimo e la si immerge in una capsula di Petri con mezzo di coltura. Il biologo provvederà alla frammentazione del pezzo prima con forbici o bisturi e poi con due vetrini sterili o aghi da insulina. La maggiore consistenza del pezzo rispetto ai frammenti di parenchima testicolare non permette infatti la frammentazione di questo con i soli vetrini come descritto per la TESE.

Conclusioni

E' possibile utilizzare ciascuna delle suddette tecniche (TESE, TESA, TEFNA, MESA, ESE, PESA) per ICSI in casi di azoospermia ostruttiva. I risultati riportati in letteratura con l'impiego di esse dimostrano percentuali di gravidanza abbastanza simili con differenze non tali da indicare indiscutibilmente l'impiego preferenziale di una di esse. La scelta finale della tecnica di recupero dipenderà da vari elementi: a) la capacità tecnica degli operatori e le caratteristiche logistiche dei centri di ART al fine di effettuare interventi microchirurgici (che permettono un recupero ottimale di spermatozoi, fino a 100 volte superiore a quello ottenibile con i recuperi testicolari), b) i costi maggiori della microchirurgia, c) le preferenze dei biologi della riproduzione nell'impiego di spermatozoi freschi o congelati, epididimari o testicolari, ed infine d) la preferenza del paziente per un unico intervento che renda possibile il congelamento o per ripetute procedure di aspirazione con ago.

Attualmente sembra possibile poter distinguere tre principali linee di condotta clinica nei casi di Azoospermia Ostruttiva :

- **Recupero microchirurgico epididimario simultaneo al pick-up degli ovociti, o effettuato in elezione precedentemente ad esso con congelamento degli spermatozoi recuperati. In quest'ultimo caso i successivi cicli di ICSI, o tutti, compreso il primo, verranno effettuati con sperma congelato. Gli Autori che utilizzano questa condotta,**

spesso urologi con esperienza microchirurgica, ritengono che il congelamento del seme non provochi alcuna diminuzione della sua capacità fecondante e della percentuale di gravidanza a termine, ed abbia gli stessi risultati degli spermatozoi usati a fresco.

- **Recupero percutaneo epididimario o testicolare con impiego immediato per ICSI senza congelamento, ripetendo la procedura ad ogni ciclo di ICSI. Tale procedura, spesso favorita dai ginecologi o da urologi e altri operatori del settore senza esperienza microchirurgica, si basa sul concetto che gli spermatozoi freschi garantiscano migliori risultati di quelli congelati o sul fatto che il personale del laboratorio trovi più semplice lavorare su gameti freschi piuttosto che scongelati.**
- **Congelamento di spermatozoi effettuato in corso di biopsia testicolare diagnostica (TESE) effettuata in tutti i casi di azoospermia. Nelle AO, il recupero di spermatozoi estratti dal parenchima testicolare è quasi sempre sufficiente per il congelamento di diverse paillettes. L'ICSI viene quindi programmata in un secondo tempo utilizzando gli spermatozoi congelati nel corso della TESE diagnostica.**

Sono comunque individuabili alcune situazioni particolari che consigliano o sconsigliano l'impiego di una tecnica rispetto all'altra: *a)* Nelle ostruzioni delle vie seminali distali, nelle disfunzioni eiaculatorie e nelle ostruzioni potenzialmente ricostruibili sono preferibili i prelievi testicolari (TESA, TESE) rispetto a quelli epididimari (PESA e MESA) che potrebbero danneggiare la pervietà del tubulo epididimario. *b)* In mancanza di attrezzature per il congelamento è controindicata la ESE e meno indicata la MESA rispetto alle tecniche percutanee che permettono il recupero di una quantità sufficiente di spermatozoi per il ciclo di ICSI in corso. In caso di insuccesso delle tecniche percutanee è ovviamente giustificato il ricorso a MESA e ESE. *c)* In presenza di spermatocele epididimario la PESA è la tecnica di prima scelta.

Infine non bisogna dimenticare che tutte le tecniche di recupero di spermatozoi per ICSI dovrebbero essere prese in considerazione nei casi di AO solo dopo aver escluso la possibilità di effettuare in prima istanza tecniche di ricanalizzazione o ricostruzione delle vie seminali (vaso-vasostomia, vaso-epididimostomia, TURED) che permettono una fecondazione naturale.

Bibliografia

1. Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P.

- High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod* 1995, 10:148-152.
2. **Oates RD, Lobel SM, Harris DH, Pang S, Burgess CM, Carson RS**
Efficacy of ICSI using intentionally cryopreserved epididymal spermatozoa. *Hum Reprod* 1996, 11:133-138.
 3. **Prins GS, Dolgina R, Studney P, Kaplan B, Ross L, Niederberger C**
Quality of cryopreserved testicular sperm in patients with obstructive and nonobstructive azoospermia. *J Urol* 1999, 161:1504-1506.
 4. **Mc Cullough A, Nagler H**
A comparison of IVF/ICSI results with frozen epididymal sperm (FZEPS) versus fresh testicular sperm (FRTS) in azoospermic men. *J Urol* 1999, 161 (Suppl) 353A.
 5. **Tournaye H, Clasen K, Aytöz A, Nagy Z, Van Steirteghem A, Devroey P.**
Fine needle aspiration versus open biopsy for testicular sperm recovery: a controlled study in azoospermic patients with normal spermatogenesis. *Hum Reprod* 1998, 13:901-904.
 6. **Belker AM, Sherins RJ, Dennison-Lagos L, Thorsell LP, Schulman JD**
Percutaneous testicular sperm aspiration: a convenient and effective office procedure to retrieve sperm for in vitro fertilization with ICSI. *J Urol* 1998, 160:2058-2062.
 7. **Levine LA, Lisek EW.**
Successful sperm retrieval by percutaneous epididymal and testicular sperm aspiration. *J Urol* 1998, 159:437-440.
 8. **Craft I, Tsirigotis M, Bennett V, Taranissi M, Khalifa Y, Hogewind G, Nicholson N**
Percutaneous epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection in the management of infertility due to obstructive azoospermia. *Fertil Steril* 1995, 63:1038-1042.
 9. **Silber SJ, Balmaceda J, Borrero C, Ord T, Asch R.**
Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril* 1988, 50: 525-528.
 10. **Franco G, Rocchegiani A., Di Marco M., Martini M., Di Crosta G, Laurenti C.**
A new minimally invasive approach of MESA. *Minimally Invasive Therapy and Allied Technology* 1996, 5(Suppl 1):66.
 11. **Franco G, Rocchegiani A, Di Marco M, Martini M, Presta L, Laurenti C.**
Un nuovo approccio mini-invasivo di MESA. In: *Andrologia '96*. Eds F. Menchini Fabris, P. Rossi, P. Turchi. Monduzzi, Bologna, 357-361, 1996.
 12. **Nudell DM, Conaghan J, Pedersen RA, Givens CR, Schriock ED, Turek PJ.**
The Mini-MESA for sperm retrieval: a study of Urological outcomes. *Hum Reprod* 1998, 13:1260-1265.
 13. **Franco G, Greco E, Manna C, Rienzi L, Rocchegiani A, Martini M, Laurenti C.**
Epididymal and testicular sperm retrieval (MESA-TESE) for ICSI in obstructive and secretory azoospermia. *European Urology*. 30, S2: 286, 1996.
 14. **Schlegel P, Palermo GD, Alikani M, Adler A, Reing AM, Cohen J, Rosenwaks Z.**
Micropuncture retrieval of epididymal sperm with in vitro fertilization: importance of in vitro micromanipulation techniques. *Urology* 1995, 46: 238-241.
 15. **Kim SJ, Han HD.**
In vitro retrieval of epididymal sperm: a new approach to achievement of pregnancy for post-testicular azoospermia. *Fertil Steril* 1995, 63:656-659.

<p>PRELIEVO CHIRURGICO O STRUMENTALE DI SPERMATOZOI PER FECONDAZIONE ASSISTITA: DOTTO DEFERENTE E VIE SEMINALI DISTALI</p>

1. MICROSURGICAL VASAL SPERM ASPIRATION (MVSA)

Consiste nella aspirazione microchirurgica di spermatozoi dal lume del deferente. E' indicata nei casi di ostruzione deferenziale distale non ricostruibile (danni iatrogeni da chirurgia pelvica o da ernioplastica), nei casi di ostruzione dei dotti eiaculatori non trattabili con TURED o con altre tecniche di prelievo di spermatozoi (DISTA), nelle eiaculazioni retrograde con insufficiente recupero di spermatozoi dalle urine post-orgasmo e nelle

aneiaculazioni di differente eziologia, quando fallisce la vibrostimolazione o la elettroeiaculazione¹⁻³. E' infine indicata in casi selezionati di necrozoospermia o marcata oligoastenozoospermia in presenza di disturbi funzionali o strutturali di svuotamento delle vie seminali distali che comportano un ristagno prolungato degli spermatozoi. In questi pazienti, infatti, gli spermatozoi ottenibili dal deferente hanno una buona motilità e vitalità. I recuperi di spermatozoi sono quasi sempre molto buoni sia in termini di conta che di motilità tanto da rendere spesso possibili tecniche di ART meno invasive della ICSI (IVF, IUI) oltre che il congelamento. Lo svantaggio principale della procedura è che deve essere eseguita con tecnica microchirurgica, indispensabile per la chiusura della breccia del deferente pena il rischio di un'ostruzione iatrogena di questo.

Note di tecnica

In anestesia locale per infiltrazione della cute scrotale, si effettua una piccola incisione di questa avendo localizzato il deferente con la manovra a tre dita. Isolato il deferente ed esteriorizzato dalla breccia chirurgica, si procede alla emisezione di questo con bisturi a livello della porzione retta. Con un agocannula 23 o 24 G montato su siringa da insulina o su altro sistema di aspirazione³ è poi possibile procedere all'aspirazione del liquido dal lume del moncone prossimale del deferente. Il lume deve essere suturato con sutura microchirurgica (Nylon 10/0) preferibilmente in doppio strato (2-3 punti interni e 5-6 punti esterni).

Conclusioni

La MVSA è indicata in particolari situazioni di ostruzione o disfunzione delle vie seminali distali. Dall'introduzione dell'ICSI ha visto ridurre le sue indicazioni per la possibilità di utilizzare spermatozoi testicolari prelevati con TESE o TESA, tecniche di più facile esecuzione anche se meno efficaci nel recupero di spermatozoi.

Bibliografia

1. **Hirsh AV, Mills C, Tan SL, Bekir J, Rainsbury P.** Pregnancy using spermatozoa aspired from the vas deferens in a patient with ejaculatory failure due to spinal injury. Hum Reprod 1993, 8:89-90.
2. **Hovatta O, von Smitten K.** Sperm aspiration from vas deferens and in-vitro fertilization in cases of non-treatable anejaculation. Hum Reprod 1993, 8:1689-1691.
3. **Pomerol Monseny JM.** Tratamientos quirurgicos de la infertilidad masculina: Recuperacion espermatica deferencial. In: Actualizacion in Andrologia, Barcelona 1998: 27-35.

2. DISTAL SEMINAL TRACT ASPIRATION (DISTA)

Ideata come tecnica diagnostica^{1,2}, la DISTA è stata successivamente proposta come trattamento di supporto alle tecniche di fecondazione assistita, in particolare nelle forme di azoospermia da ostruzione dei dotti eiaculatori³. Tale tecnica prevede l'aspirazione ecoguidata transperineale o transrettale con ago sottile del liquido contenuto nelle vescicole seminali, nei dotti eiaculatori o in cisti del carrefour seminale di pazienti con ostruzione distale della via seminale, a scopo di recupero di spermatozoi ed impiego di questi per ART. I vantaggi di questa tecnica rispetto alla TURED sono di essere minimamente invasiva, eseguibile in anestesia locale e facilmente ripetibile, e di non avere le complicanze della TURED quali la contaminazione urinaria del liquido seminale da reflusso di urine nelle vie seminali per distruzione del meccanismo antireflusso dei dotti eiaculatori. Rispetto alle tecniche di recupero di spermatozoi dalle vie seminali più prossimali (deferente: MVSA; epididimo: MESA-PESA; testicolo: TESE-TESA) presenta il vantaggio di non comportare il rischio di ostruzioni secondarie iatrogene in queste sedi (possibili con la MVSA, MESA, PESA), di essere di esecuzione più semplice, rapida ed economica (rispetto alla MVSA, MESA e TESE) e di permettere solitamente un recupero di spermatozoi migliore (rispetto alla TESA, TESE e PESA), quasi sempre sufficiente per il congelamento e talvolta per l'impiego di tecniche di ART più semplici. Gli svantaggi sono rappresentati dalla necessità di dover comunque ricorrere ad una tecnica di ART, dal dover dipendere dalla disponibilità di un apparecchio ecografico e da una seppure trascurabile incidenza di infezioni ascendenti delle vie seminali. Sono stati riportati casi aneddotici di gravidanze ottenute con questa tecnica abbinata alla inseminazione intrauterina o alla IVF in casi di ostruzione dei DE, ma il numero di studi o di esperienze con essa non è sufficiente per una adeguata comparazione dei risultati con le altre tecniche disostruttive o di recupero di spermatozoi per ART.

Trova un'indicazione primaria insieme al STW⁴ nelle ostruzioni non cistiche dei dotti eiaculatori estendentisi al di fuori della prostata, dove la TURED non è indicata per i notevoli rischi, ed un'indicazione secondaria nei casi di cisti prostatiche comunicanti con le vie seminali o nelle ostruzioni non cistiche intraprostatiche dei DE. Essendo inoltre spesso impiegata nello studio diagnostico delle azoospermie da sospetta ostruzione distale⁵, può essere efficacemente seguita, in caso di recupero di spermatozoi mobili, dal congelamento di questi per impiego in cicli successivi di ART.

Note di tecnica

E' consigliabile far eiaculare il paziente subito prima della procedura allo scopo di aumentare il numero di spermatozoi giovani presenti nelle vie seminali distali. Il paziente viene posto in

posizione litotomica o in decubito laterale sin. Previa somministrazione di antibiotici per via sistemica e, nel caso di puntura transrettale, anche per enteroclistima, si procede ad ecografia transrettale preferibilmente con sonda lineare. Nel caso di puntura transperineale viene effettuata una anestesia locale cutanea con carbocaina 1%. L'ago, tipo Chiba 20-22 G, viene guidato ecograficamente fino alla struttura dilatata da pungere (vescicola seminale, DE, cisti prostatica comunicante). Viene a questo punto aspirato il contenuto liquido ed inviato al laboratorio per ricerca e trattamento degli spermatozoi (swim-up, percoll, mini-percoll) da utilizzare per ART. E' consigliabile effettuare anche un lavaggio della cavità con mezzo di coltura ed inviare per ricerca degli spermatozoi anche il liquido riaspirato. Se effettuata in fase diagnostica, la procedura può essere completata dalla iniezione di mezzo di contrasto per vesciculodeferentografia ⁶.

Conclusioni

Esistono pochi dati in letteratura che permettano di stabilire il reale ruolo di questa nuova tecnica. La DISTA trova un'indicazione primaria in casi di ostruzione dei DE non trattabili con TURED o con altre tecniche (stenosi extraprostatiche) e rappresenta un'efficace metodica alternativa alle tecniche disostruttive e alle altre tecniche di recupero di spermatozoi in tutte le altre situazioni di ostruzione (cistica e non cistica) della via seminale distale.

Bibliografia

1. **Jarow JP.** Seminal vesicle aspiration in the management of patients with ejaculatory duct obstruction. J Urol 1994, 152:899-901.
2. **Jarow JP.** Seminal vesicle aspiration of fertile men. J Urol 1996, 156:1005-1007.
3. **Franco G, Gandini L, Ciccariello M, Martini M, Fabbri A, Laurenti C.** Transperineal distal seminal tract sperm aspiration: an alternative treatment to transurethral resection of the ejaculatory ducts? J Urol 1995, 153:261A.
4. **Colpi GM, Negri L, Gianaroli L, Grugnetti C, Ferraretti AP, Scropo FI, Fortini D, Balerna M.** Seminal Tract Washout: a new tool for assisted conception. In: Colpi GM & Balerna M (eds) Treating Male Infertility: New Possibilities. Karger, Basel, 1994:225-232.
5. **Jarow JP.** Transrectal ultrasonography in the diagnosis and management of ejaculatory duct obstruction. J Androl 1996, 17:467-472.
6. **Franco G, Solivetti FM, D'Ascenzo R, Fabbri A, Guglielmino S, Laurenti C.** Transperineal vesiculography with seminal tract wash-out: a new method in the assessment of obstructive azoospermia. 23rd Congress Società Internazionale D'Urologie, Sidney, Abstract book, p. 103, 1994.

3. ASPIRAZIONE TRANSRETTALE ECOGUIDATA DI SPERMATOZOI DA CISTI INTRAPROSTATICHE COMUNICANTI CON I DOTTI EJACULATORI (TRUSCA)

La TRUSCA (Trans-Rectal Ultrasonically-guided Sperm Cyst Aspiration)¹ può essere utilizzato per recuperare spermatozoi da cisti mulleriane o del seno uro-genitale comunicanti con uno o entrambi i dotti eiaculatori. Il materiale seminale aspirato dalla cisti può risultare idoneo per la crioconservazione e quindi per un successivo utilizzo nella ICSI. Può essere utile eseguirla una seconda volta, a poche ore di distanza dalla prima e subito dopo una eiaculazione, per aver più probabilità di ottenere spermatozoi giovani affluiti di recente nella sede soggetta ad aspirazione.

Bibliografia

1. **Colpi GM, Negri L, Grugnetti C, Scropo FI**

Trattamento mini-invasivo delle dispermie da anomalie dei dotti eiaculatori. In: C. Foresta e C. Scandellari (eds): Infertilità Maschile: Approccio Terapeutico Razionale. CLEUP, Padova, 1995: 115-124.

4. SEMINAL TRACT WASHOUT FINALIZZATO A RECUPERARE SPERMATOZOI PER FECONDAZIONE ASSISTITA

Il Seminal Tract Washout (STW) consiste in un lavaggio anterogrado delle vie seminali a valle delle code degli epididimi, attraverso il quale gli spermatozoi vengono sospinti in vescica. Questi ultimi vengono recuperati tramite cateterismo vescicale e crioconservati o utilizzati a fresco per tecniche di fecondazione assistita¹.

Lo STW è una procedura chirurgica minimamente invasiva, applicabile nei soggetti azoospermici (o criptoospermici) affetti da disturbo funzionale dello svuotamento delle vie seminali distali² oppure da ostruzione incompleta anatomica (congenita o acquisita) dei dotti eiaculatori³.

Anche nei pazienti affetti da anejaculazione neurogena (esito di mielolesione traumatica o iatrogena, di diabete giovanile, di linfoadenectomia retroperitoneale per neoplasia testicolare monolaterale)⁴ e in quelli affetti da anejaculazione psicogena⁴, il recupero di spermatozoi per fecondazione assistita risulta soddisfacente.

Tecnica: la procedura viene eseguita in regime di day-hospital. Inserito un catetere Foley 16-18 Ch in vescica, si lava quest'ultima con T6 medium o con Ham's F10 per portare il pH a valori idonei al mantenimento degli spermatozoi e vi si lasciano circa 20 ml dello stesso medium. In anestesia locale funicolare, si esteriorizzano con pinza di Allis i dotti deferenti che vengono liberati dalle tuniche, caricati tra due fettucce vascolari e rettilineizzati per agevolare il loro incannulamento con un ago Butterfly™ 25 G di 9.5 mm di lunghezza. Con

siringa da 2.5 ml si infondono in senso anterogrado 20 ml di T6 medium o di Ham's F10 per parte. Dalla vescica viene immediatamente recuperato mediante il catetere tutto il liquido presente (quello preventivamente instillatovi e quello affluitovi dall'irrigazione dei deferenti): esso viene centrifugato (10 min.; 600 G) ed il pellet trattato con la tecnica del mini-Percoll. Gli spermatozoi ottenuti possono essere usati per fecondazione assistita *in-vivo* o *in-vitro*, oppure crioconservati ed utilizzati successivamente per ICSI.

I tassi di gravidanza a termine delle tecniche di fecondazione assistita con spermatozoi recuperati da STW sono elevati ⁴, e comunque sovrapponibili a quelli ottenibili con spermatozoi testicolari in soggetti azoospermici ostruttivi ⁵⁻¹⁰.

Lo STW è semplice, economico, non richiede suture microchirurgiche, né uso di personale paramedico. Rispetto alla *testicular sperm extraction* (TESE)¹¹ e la *testicular fine needle sperm aspiration* (TEFNA)¹², allorchè correttamente indicato (vedi sopra), lo STW consente di recuperare un numero molto più elevato di spermatozoi, eventualmente crioconservabili e anche di ottenere preparazioni biologiche idonee a tecniche di fecondazione assistita *in-vivo*, evitando spesso la ICSI. Lo STW è invasivo quanto una TESE con singolo prelievo pulpale, e sicuramente meno di quella con multipli prelievi. Esso non richiede infatti l'apertura della tunica vaginale, l'esteriorizzazione della gonade e la sutura dell'albuginea, ed è pertanto scevro da rischi di sanguinamento e di ematoma gonadico descritti da alcuni Autori ¹³.

Le uniche precauzioni da adottare sono il rispetto della vena e della arteria deferenziale, facilmente identificabili lungo il dotto, e un accurato e prudente incannulamento dello stesso con un ago a farfalla 25 G di 9,5 mm di lunghezza. Aghi più lunghi risultano meno idonei.

Bibliografia

1. **Colpi GM, Negri L, Stamm J, Balerna M.** Full-term pregnancy obtained with sperm recovered by seminal tract washout from an anejaculating, spinal cord injured man. *J Urol* 1992, 148:1266-1268.
2. **Colpi GM, Casella F, Zanollo A, Ballerini G, Balerna M, Campana A, Langè A.** Functional voiding disturbances of the ampullo-vesicular seminal tract: a cause of male infertility. *Acta Eur Fertil* 1987, 18:165-179.
3. **Colpi GM, Negri L, Gianaroli L, Grugnetti C, Ferraretti AP, Scropo FI, Fortini D, Balerna M.** Seminal Tract Washout: a new tool for assisted conception. In: Colpi GM & Balerna M (eds), *Treating Male Infertility: New Possibilities*. Karger, Basel, 1994:225-232.
4. **Colpi GM, Negri L, Pariani S, Gianaroli L, Ferraretti AP, Balerna M.** Seminal tract washout as a method to recover sperm for assisted reproductive technology: a treatment for infertility due to anejaculation. Abstract of the 14th Annual Meeting of the ESHRE, Goteborg 1998; *Hum Reprod* 1998, 13:121.
5. **Tournaye H, Clasen K, Aytöz A, Nagy Z, Van Steirteghem A, Devroey P.** Fine needle aspiration versus open biopsy for testicular sperm recovery: a controlled study in azoospermic patients with normal spermatogenesis". *Hum Reprod* 1996, 13:901-904.
6. **Obruca A, Mock K, Feichtinger W, Lunglmayr G.** Fertilization and pregnancies following intracytoplasmic injection of testicular spermatozoa." *J Assist Reprod Genet* 1995, 12:627-631.
7. **Tucker MJ, Morton PC, Witt MA, Wright G.** Intracytoplasmic injection of testicular and epididymal

- spermatozoa for treatment of obstructive azoospermia. Hum Reprod 1995, 10:486-489.
8. **Gil-Salom M, Minguez Y, Rubio C, Remohi J, Pellicer A.** Intracytoplasmic testicular sperm injection: an effective treatment for otherwise intractable obstructive azoospermia. J Urol 1995, 154:2074-2077.
 9. **Wittermer C, Ohl J, Bettahar-Lebugle K, Moreau L, Dellenbach P.** When the needle replaces the knife: first pregnancies obtained after percutaneous testicular aspiration and intracytoplasmic sperm injection. Contracept Fertil Sex 1997, 25:46-50.
 10. **Brassesco M.** ICSI en situaciones limites, estudio multicentrico espanol. Libro de ponencias y resúmenes de trabajos de VIII Congreso Nacional de Andrologia, Sevilla, 5-8marzo 1997. pp. 306-320.
 11. **Silber SJ, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Lissens W, Ferec C, Liebaers I, Devroey P, Van Steirteghem AC.** The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection: the genetic implications for male infertility. Hum Reprod 1995, 10:2031-2043.
 12. **Craft I, Tsirigotis M.** Simplified recovery, preparation and cryopreservation of testicular spermatozoa. Hum Reprod 1995, 10:1623-1626.
 13. **Schlegel PN, Su LM.** Physiological consequences of testicular sperm extraction. Hum Reprod 1997, 12:1688-1692.

AZOOSPERMIE SECRETORIE

TERAPIE MEDICHE

La quasi totalità delle azoospermie secretorie si presenta con una alterazione irreversibile della spermatogenesi (*testicular failure*) associata spesso ad FSH elevato ed a testicoli di dimensioni ridotte^{1,2}. Queste forme di azoospermia possono essere primitive (idiopatiche, da criptorchidismo o da anomalie cromosomiche o geniche) o secondarie (esiti di traumi, torsioni funicolari, orchiti, chemio-radioterapie). Sotto il profilo istologico si riconoscono quadri di aplasia germinale completa (mancano totalmente le cellule della linea spermatogenetica), di arresto maturativo (usualmente a livello premeiotico) e di ipospermatogenesi estrema (sono presenti sporadici e minuscoli foci di cellule germinali), sebbene non infrequentemente si possano osservare nella stessa gonade quadri misti, ove le tre categorie sopra riportate coesistono con espressione differente da paziente a paziente³.

Non esistono allo stato attuale terapie mediche in grado di ripristinare la fertilità in questi pazienti.

L'unica forma di azoospermia secretoria curabile sensu strictu risulta quella da ipogonadismo ipogonadotropo, che tuttavia rappresenta solo lo 0,6% dei casi. Tale forma è caratterizzata da una ridotta secrezione di gonadotropine e da una ridotta maturazione delle cellule germinali con decondensazione cromatinica⁴. Un deficit di gonadotropine e di androgeni si associa ad una riduzione del numero di cellule germinali mature⁵. Le forme congenite si presentano con una azoospermia solitamente reversibile. Una supplementazione del solo testosterone non sembra in grado di ripristinare la fertilità⁶. Un trattamento combinato di FSH ed LH porta alla comparsa della spermatogenesi nell'80% dei pazienti trattati⁷ ed il liquido seminale ottenuto, seppure con valori al di sotto dei limiti considerati normali, appare altamente fecondante⁸.

Il trattamento deve essere protratto per almeno 12 mesi con fiale di FSH ed LH somministrate 3 volte a settimana. I risultati sono visibili a 6 mesi dall'inizio del trattamento ma solo dopo 12-18 mesi si può ottenere la comparsa di un numero di spermatozoi superiore a $10 \times 10^6/\text{ml}$. Gli studi più recenti effettuati con l'impiego di FSH ricombinante hanno dimostrato un'efficacia sovrapponibile, con la comparsa di spermatozoi nell'eiaculato dopo 6 mesi in 7 casi su 8, e il concepimento in ben 3 coppie dopo soli 9 mesi di terapia⁹.

Di recente si è delineato il quadro dell'ipogonadismo ipogonadotropo acquisito idiopatico, con insorgenza post puberale. In questi soggetti ad una normale maturazione sessuale si associa una ridotta pulsatilità delle gonadotropine, una disfunzione sessuale ed un'azoospermia. Il volume testicolare medio va da 8 a 18 ml rispetto alle forme prepuberi (3ml). Il trattamento protratto con GnRH o con gonadotropine ripristina la fertilità in tutti i casi pubblicati, in tempi sovrapponibili a quelli delle forme prepuberali^{10,11}.

Bibliografia

1. **Jarow JP, Espeland MA, Lipshultz LI.** Evaluation of the azoospermic patient. *J. Urol* 1989, 142: 62-65.
2. **Chen CS, Chu SH, Lai YM, Wang ML, Chan PR.** Reconsideration of testicular biopsy and follicle-stimulating hormone measurement in the era of intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia? *Hum Reprod* 1996, 11:2176-2179.
3. **Silber SJ, Nagy Z, Devroey P, Tournaye H, Van Steirteghem AC.** Distribution of spermatogenesis in the testicles of azoospermic men: the presence or absence of spermatids in the testes of men with germinal failure. *Hum Reprod* 1997, 12:2422-2428.
4. **Moudgal NR, Sairam MR, Krishnamurthy HN.** Immunization of male bonnet monkeys (*M. radiata*) with a recombinant FSH receptor preparation affects testicular function and fertility. *Endocrinology* 1997, 138:3065-3068.
5. **Brinkworth MH, Weinbauer GF, Schlatt S, Nieschlag E.** Identification of male germ cell undergoing apoptosis in adult rats. *J. Reprod. Fertil* 1995, 105:25-33.
6. **Schaison G, Yaoung J, Pholsena M, Nahoul K, Couzinet B.** Failure of combined follicle-stimulating hormone-testosterone administration to initiate and/or maintain spermatogenesis in men with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, 77:1545-1549.
7. **Lunenfeld B, Olchovsky D, Tadir Y, Glezerman M.** Treatment of male infertility with human gonadotrophins: Selection of cases, management and results. *Andrologia* 1979, 11: 331-336.
8. **Kliesch S, Behre HM, Nieschlag E.** High efficacy of gonadotropin or pulsatile-gonadotropin releasing hormone treatment in hypogonadotropic hypogonadal men. *Eur J Endocrinol* 1994, 131:347-354.
9. **Liu PY, Turner L, Rushford D, McDonald J, Baker HW, Conway AJ, Handelsman DJ.** Efficacy and safety of recombinant human follicle stimulating hormone (Gonal-F) with urinary human chorionic gonadotrophin for induction of spermatogenesis and fertility in gonadotrophin-deficient men. *Hum Reprod* 1999, 14:1540-1545.
10. **Nachtigall, L.B., Boepple PA, Pralong FP, Crowley WF Jr.** Adult-onset idiopathic hypogonadotropic hypogonadism -a treatable form of male infertility. *N Engl J Med* 1997, 336:410-415.
11. **Yong EL, Lee KO, Ng SC, Ratnam SS.** Induction of spermatogenesis in isolated hypogonadotropic hypogonadism with gonadotrophins and early intervention with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997, 12:1230-1232.

IL VARICOCELE NELL'AZOOSPERMIA

Alcuni studi hanno dimostrato che la qualità del liquido seminale tende a peggiorare nel tempo nei soggetti affetti da varicocele, e che il varicocele in pazienti con infertilità secondaria risulta statisticamente più frequente (69%) che nei pazienti affetti da infertilità primaria (50%)¹. Ancora oggi, comunque, nulla si conosce circa il meccanismo patogenetico che porta all'azoospermia. Attualmente alcuni autori hanno focalizzato l'attenzione sull'alterazione della produzione androgenica testicolare in presenza di varicocele, ed infatti è stata riscontrata un'elevata concentrazione di inibina, prodotta dalle cellule di Sertoli con conseguente ridotta produzione di FSH ed alterazione della spermatogenesi². In un altro studio, Okuyama, eseguendo un test al GnRH in molti pazienti con varicocele, ha dimostrato un alterato funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo³.

Dopo aver identificato nel varicocele l'unica possibile causa dell'azoospermia, si deve indicare al paziente la necessità di una correzione chirurgica, utilizzando una delle diverse tecniche chirurgiche. La chiusura delle vene del plesso pampiniforme, chirurgica o radiologica, può essere associata o meno a terapia medica.

I dati in letteratura sull'eventuale miglioramento dei parametri seminali e della pregnancy rate in pazienti azoospermici e sottoposti a correzione del varicocele sono estremamente discordanti. Czaplicki et al.⁴ hanno osservato la comparsa di spermatozoi a distanza di 14 mesi in 12 dei 33 pazienti operati, e in 3 coppie si è ottenuto concepimento spontaneo.

Matthews et al.⁵ hanno riportato la comparsa di spermatozoi nell'eiaculato in 12 dei 22 pazienti azoospermici sottoposti a correzione del varicocele (tre di loro hanno anche indotto una gravidanza spontanea). L'Autore dichiara che il riscontro di arresto maturativo o di ipospermatogenesi alla biopsia testicolare omolaterale rappresenta un fattore prognostico positivo.

Kim et al.⁶ hanno ottenuto la comparsa di spermatozoi in 12 dei 28 pazienti azoospermici sottoposti a correzione del varicocele. Ad un follow-up a 24 mesi la concentrazione spermatozoaria era di $1.2 \pm 3.6 \times 10^6/\text{ml}$ e la motilità totale di $19 \pm 24\%$. Anche da questo lavoro il riscontro di arresto maturativo spermatidico o di ipospermatogenesi alla biopsia testicolare omolaterale emerge come un fattore prognostico positivo. Nessuna gravidanza naturale è stata ottenuta a distanza di due anni dall'intervento.

D'Ottavio et al.⁷ dal 1978 al 1985 hanno trattato chirurgicamente 26 pazienti azoospermici con varicocele, e 20 di questi sono rimasti azoospermici dopo l'intervento.

Conclusioni

Pur sapendo che il trattamento chirurgico o radiologico del varicocele in un paziente azoospermico può non modificare la qualità del liquido seminale, riteniamo che, in assenza di altre possibili cause di danno testicolare, sia utile correggere il varicocele specialmente in funzione di un possibile trattamento con fecondazione assistita. L'indicazione al trattamento chirurgico deve tener conto dell'età (meno di 37 anni) della partner del paziente.

Bibliografia

1. **Witt MA, Lipshultz LI.** Varicocele: a progressive or static lesion? Urology 1993, 42:541-544.
2. **Baccetti B.** Studies on varicocele. II. The inhibin secretion. J Submicroscop Cytol Pathol 1993, 25:137-144.
3. **Okuyama M.** Surgical repair of varicocele at puberty. Preventive treatment for fertility improvement. J Urol 1988, 139:562-566.
4. **Czaplicki M, Bablok L, Janczewski Z.** Varicocelectomy in patients with azoospermia. Arch Androl 1979, 5:51-55.
5. **Matthews G., Matthews E.D., Goldstein M.** Induction of spermatogenesis and achievement of pregnancy after microsurgical varicocelectomy in men with azoospermia and severe oligoasthenospermia. Fertil Steril 1998, 70:71-75.
6. **Kim ED, Leibman BB, Grinblat DM, Lipshultz LI.** Varicocele repair improves semen parameters in azoospermic men with spermatogenic failure. J Urol 1999, 162:737-740.
7. **D'Ottavio G, Lagana A, Pozza D, Mezzetti M, Toscana C.** Risultati del trattamento chirurgico di varicocelectomia in pazienti con azoospermia. Min Chir 1987, 42:489-491.

<p style="text-align: center;">TRATTAMENTI CHIRURGICI E STRUMENTALI DI SUPPORTO ALLA FECONDAZIONE ASSISTITA</p>
--

La scoperta che esistono foci di spermatogenesi attiva nei tubuli seminiferi di soggetti azoospermici con documentata patologia secretoria delle gonadi ¹⁻³, ha demolito un dogma andrologico ed ha fornito una nuova opzione terapeutica (ICSI con spermatozoi prelevati dai testicoli) a numerose coppie destinate fino ad allora a ricorrere all'adozione o alla inseminazione con seme eterologo.

Da una recente revisione delle casistiche dei maggiori Centri Internazionali ⁴ (1503 prelievi chirurgici o strumentali di spermatozoi testicolari effettuati in pazienti classificati come azoospermici secretori) risulta che nel 52% dei casi è possibile recuperare spermatozoi testicolari sufficienti per l'esecuzione di almeno un ciclo ICSI. Il mancato recupero di gameti maschili in circa la metà dei soggetti può essere imputato sia alle differenti procedure utilizzate, sia alla eterogeneità della popolazione degli azoospermici secretori. Accanto a soggetti ex-criptorchidi, o con orchidometria primitivamente molto ridotta, nei quali l'esame biotico testicolare documenta frequentemente quadri di aplasia germinale, coesistono

soggetti con orchidometria poco alterata e quadri istologici di arresto maturativo più o meno associato a quadri di ipospermatogenesi e di alterazioni interstiziali. Esistono poi numerosi individui con differenti orchiopatie secretorie acquisite (parotitica, batterica, ischemica, da chemioterapia, da radioterapia, ecc.), ed infine una altrettanto ampia popolazione di soggetti nei quali l'orchiopatia secretoria si associa ad una patologia ostruttiva delle vie seminali (e nei quali il confine tra le due patologie non è spesso ben netto)^{5,6}.

Alcuni Autori hanno cercato di individuare i fattori predittivi di presenza di spermatozoi nella polpa testicolare degli azoospermici. Chen et al. (1996)⁷ non hanno mai trovato spermatozoi nei pazienti con FSH serico > 30 mIU/ml. Tournaye et al. (1996)⁸ documentano l'estrazione di spermatozoi nel 100% dei pazienti con biopsia testicolare normale o con ipospermatogenesi, nell'86% dei pazienti con Sertoli cell-only syndrome incompleta (nel 19% quando completa), nel 62% dei pazienti con arresto maturativo incompleto (nel 48% quando è completo) e nel 61% dei pazienti con sclerosi tubulare (biopsia testicolare: PPV 83,3%; NPV 68,7%).

La presenza di microdelezioni a carico del braccio lungo del cromosoma Y⁹ non sembra influenzare negativamente la probabilità di estrarre spermatozoi dal testicolo. Silber et al. (1998)¹⁰ sono riusciti ad ottenere spermatozoi ed a eseguire ICSI in 5 su 10 azoospermici portatori di microdelezione (=50%), mentre negli azoospermici secretori senza delezione il tasso di successo è stato del 54% (22 su 41). Brandell et al. (1998)¹¹ hanno tuttavia ipotizzato che microdelezioni coinvolgenti la regione AZFb siano associate al mancato recupero di spermatozoi alla TESE (mentre quando tale regione non è interessata, il tasso di recupero spermatozoario sembra sovrapponibile a quello della popolazione non microdeleta).

I risultati della ICSI con spermatozoi prelevati in pazienti affetti da azoospermia secretoria non sembrano finora discostarsi da quelli ottenuti in pazienti con azoospermia ostruttiva. Molto di recente tuttavia, con l'aumentare delle casistiche, sembra emergere che nelle azoospermie secretorie il tasso di fertilizzazione e di gravidanze evolutive risulti inferiore se confrontato con quello delle ICSI con spermatozoi eiaculati o di soggetti con ostruzione delle vie seminali¹².

Un discorso a parte merita l'utilizzo della ICSI con cellule germinali immature aploidi (spermatidi rotondi, spermatidi in allungamento e spermatidi allungati) quando il prelievo chirurgico testicolare non fornisca spermatozoi. Trattandosi di una procedura recentissima non è possibile emettere un giudizio definitivo in merito alla sua efficacia.

Ciò nonostante devono essere sottolineati alcuni aspetti peculiari di tale procedura, e innanzitutto sulle modalità di identificazione degli spermatidi (nelle loro diverse fasi di

maturazione) rispetto alle altre cellule presenti nell'eiaculato o nel tessuto testicolare. Facendo uso di un microscopio a contrasto di fase invertito per la valutazione morfologica delle cellule e dell'ibridizzazione fluorescente in situ (per identificarne il corredo cromosomico aploide), si individuano gli spermatidi rotondi, distinguibili per le piccole dimensioni, il nucleo rotondo e la presenza di un granulo acrosomico adiacente al nucleo. Ma, spesso, questa identificazione non è semplice, poiché la stessa vescicola acrosomiale può risultare difficilmente differenziabile da un semplice vacuolo. Da qui nasce il dubbio che, a volte, si possano iniettare delle cellule ritenute erroneamente spermatidi rotondi con conseguente mancata fertilizzazione¹³.

Una seconda considerazione prende spunto dall'osservazione di Silber e Johnson¹⁴, i cui studi dimostrano la assoluta eccezionalità del riscontro di soli spermatidi rotondi o allungati in assenza di spermatozoi (vale a dire di un arresto maturativo completo post-meiotico). Pertanto quando si accerti la presenza di spermatidi (rotondi o allungati) è altamente probabile che esistano anche spermatozoi nel frammento testicolare prelevato.

Una terza considerazione concerne i tassi di gravidanza ottenibili con la ICSI. Nel ratto il tasso di successo utilizzando spermatidi rotondi è pari all'1%¹⁵. Dopo le prime segnalazioni di nascite in umani da parte dei gruppi di Fishel e Tesarik nel 1995^{16,17}, le maggiori casistiche internazionali documentano una ridottissima fertilization rate ed una delivery rate prossima allo 0% utilizzando spermatidi rotondi¹⁸⁻²². Risultati migliori sembrano ottenibili quando si utilizzano spermatidi allungati¹⁸⁻²².

L'ultima considerazione riguarda il rischio di malformazioni maggiori nei bambini nati con microiniezione intracitoplasmatica di spermatidi. Una recente segnalazione di un gruppo all'avanguardia nell'uso di tali procedura riporta che su quattro bambini nati, ben due presentavano malformazioni maggiori²³.

1. TESTICULAR SPERM EXTRACTION (TESE)

La procedura di base è la stessa descritta nel capitolo relativo alle azoospermie ostruttive. Mentre in queste ultime il prelievo di un singolo frammento di polpa testicolare è di norma sufficiente per estrarre un elevato numero di spermatozoi, nelle azoospermie secretorie è spesso necessario ricorrere al prelievo di multipli frammenti di polpa testicolare, in differenti settori dei testicoli, dato l'elevato rischio di non estrarre spermatozoi in un solo frammento di polpa.

Tecnicamente quindi la TESE può quindi essere effettuata su un singolo prelievo testicolare, mono- o bilateralmente. Questa tecnica risulta poco invasiva ed i rischi sono usualmente molto bassi. Lo sperm retrieval rate risulta pari al 40.8% ²⁴⁻²⁹.

Ricorrendo alla TESE con prelievi multipli condotti su entrambi i testicoli (usualmente si recuperano da 500 a 1000 mg di parenchima) lo sperm retrieval rate risulta più elevato (52.6%) ^{26,30}, ma l'atto chirurgico diventa decisamente più invasivo. A tale riguardo sono stati descritti casi di danno anatomico e funzionale irreversibile delle gonadi (bisogna tener conto che molti pazienti sono di base ipogonadici, ed il prelievo di ampi settori di polpa testicolare può alterare negativamente anche la secrezione di testosterone) ³¹⁻³³.

La micro-TESE rappresenta l'evoluzione più raffinata delle tecniche di prelievo di spermatozoi testicolari nei soggetti con patologia secretoria. E' un intervento microchirurgico che consiste in una ampia incisione "equatoriale" dell'albuginea testicolare sotto controllo di un microscopio operatore (8-15x), al fine di evitare la lesione dei numerosi vasi sanguigni sottoalbuginei. Tale incisione consente di lavorare su una vasta porzione di parenchima gonadico, che viene lussata esternamente all'incisione, rendendo ben visibili e dissociabili i lobuli testicolari. Con l'ausilio di una maggiore amplificazione ottica (15-25 x) si procede ad una microdissezione dei tubuli testicolari di diametro maggiore e di quelli posti in prossimità delle arterie, dove più frequentemente si trovano foci di spermatogenesi attiva. Il vantaggio di questa tecnica è uno sperm retrieval rate elevato (60%), diretta conseguenza della possibilità di ottenere numerosissimi frammenti tubulari "mappando" molti lobuli o loro zone, nonostante l'esigua quantità di parenchima asportato (<10 mg), e quindi il minore rischio di danno sulla secrezione androgenica ³⁴. La maggior durata dell'intervento e l'esigenza di una esperienza microchirurgica rappresentano la contropartita del più elevato sperm retrieval rate.

2. TESTICULAR SPERM ASPIRATION (TESA) O TESTICULAR FINE NEEDLE ASPIRATION (TEFNA)

Si tratta delle stesse procedure di aspirazione di spermatozoi dal testicolo descritte nel capitolo relativo alle azoospermie ostruttive. Se tuttavia in queste ultime il prelievo di spermatozoi risulta di norma efficace, nelle azoospermie secretorie lo sperm retrieval rate appare sicuramente modesto (34.2%, mediana 14.2%, range 7.1-58.5%) ^{12,24,28,35,36} se confrontato con quello della TESE.

Conclusioni

Utilizzando una tecnica idonea (TESE o micro-TESE) in poco più della metà dei pazienti affetti da azoospermia secretoria è possibile recuperare spermatozoi dal testicolo ed utilizzarli a fresco o dopo crioconservazione per ICSI. Lo sperm retrieval rate è migliore nei pazienti con quadro istologico testicolare di ipospermatogenesi rispetto a quelli con arresto maturativo completo o con sindrome a sole cellule di Sertoli. In relazione alle modalità di prelievo, la TESE nelle sue varianti risulta sicuramente più efficace della TESA-TEFNA.

Al momento attuale l'utilizzo degli spermatidi sembra essere giustificato nelle azoospermie secretorie in cui non si repertano spermatozoi. L'utilizzo di spermatidi allungati garantisce maggiori tassi di successo. L'utilizzo di spermatidi rotondi sembra allo stato attuale da riservare a quei centri particolarmente attrezzati nel riconoscimento di tali cellule ed è da considerare una metodica ancora sperimentale.

Bibliografia

1. **Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem A, Silber S.** Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995, 10:1457-1460.
2. **Silber SJ, Nagy Z, Devroey P, Tournaye H, Van Steirteghem AC.** Distribution of spermatogenesis in the testicles of azoospermic men: the presence or absence of spermatids in the testes of men with germinal failure. *Hum. Reprod.*, 1997, 12:2422-2428.
3. **Silber SJ, van Steirteghem A, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Devroey P.** Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest. *Fertil. Steril* 1996, 66:110-117.
4. **Colpi GM.** Does the clinical classification of azoospermia depend on the actual screening methods? *Bonner Interdisziplinäres Sterilitäts Symposium 2000*. Bonn, February 2, 2000.
5. **Colpi GM, Negri L.** Etiopatogenetic classification of azoospermic men entering testicular sperm extraction *Hum Reprod* 1999, 14 (Supplement 1).
6. **Colpi GM, Negri L, Benaglia R, Nerva F, Piediferro G, Bulfamante G.** Only a full diagnostic surgery allows a correct classification of azoospermic men entering a TESE-ICSI programme. *Hum Reprod* 2000, 15 (Abstract Book 1), O-245.
7. **Chen CS, Chu SH, Lai YM, Wang ML, Chan PR.** Reconsideration of testicular biopsy and follicle-stimulating hormone measurement in the era of intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia? *Hum. Reprod* 1996, 11:2176-2179.
8. **Tournaye H, Liu J, Nagy PZ, Camus M, Goossens A, Silber S, Van Steirteghem AC, Devroey P.** Correlation between testicular histology and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1996, 11:127-132.
9. **Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P, Page DC.** Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *Lancet* 1996, 347:1290-1293.
10. **Silber SJ, Alagappan R, Brown LG, Page DC.** Y chromosome deletions in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1998, 13:3332-3337.
11. **Brandell RA, Mielnik A, Liotta D, Ye Z, Veeck LL, Palermo GD, Schlegel PN.** AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: preliminary report of a prognostic genetic test. *Hum Reprod* 1998, 13:2812-2815.
12. **Tournaye H.** Surgical sperm recovery for intracytoplasmic sperm injection: which method is to be preferred? *Hum Reprod* 1999, 14 Suppl 1:71-81.

13. **Verheyen G, Crabbè E, Joris H, Van Steirteghem A.** Simple and reliable identification of the human round spermatid by inverted phase-contrast microscopy. *Hum Reprod* 1998, 13:1570-1577.
14. **Silber SJ, Johnson L.**
Are spermatid injection of any clinical value? *Hum Reprod* 1998, 13:509-515.
15. **Ogura A, Matsuda R, Yanagimachi R.**
Birth of normal young after electrofusion of mouse oocytes with round spermatids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91:7460-7462.
15. **Fishel S, Green S, Bishop M.** Pregnancy after intracytoplasmic injection of spermatid. *Lancet* 1995, 245:1641-1642.
17. **Tesarik J, Mendoza C, Testart J.** Viable embryos from injection of round spermatids into oocytes. *N Engl J Med* 1995, 333:525.
18. **Hannay T.** New Japanese method finally made available in Japan. *Nature Med* 1995, 1:289-290.
19. **Sousa M, Barros A, Takahashi K, Oliveira C, Silva J, Tesarik J**
Clinical efficacy of spermatid conception: analysis using a new spermatid classification scheme *Hum Reprod* 1999, 14:1279-1286.
20. **Kahraman S, Polat G, Samli M, Sozen E, Ozgun OD, Dirican K, Ozbicer T.**
Multiple pregnancies obtained by testicular spermatid injection in combination with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998, 13:104-110.
21. **Ghazzawi IM, Al Hasani S, Taher M, Sousa S**
Reproductive capacity of round spermatids compared with mature spermatozoa in a population of azoospermic men. *Hum Reprod* 1999, 14:736-740.
22. **Vanderzwalmen P, Zech H, Birkenfeld A, Yemini M, Bertin G, Lejeune B, Njis M, Segal L, Stecher A, Vandamme B, Van Roosendaal E, Schoysman R.** Intracytoplasmic injection of spermatids retrieved from testicular tissue: influence of testicular pathology, type of selected spermatids and oocyte activation. *Hum Reprod* 1997, 12:1203-1213.
23. **Zech H, Vanderzwalmen P, Prapas Y, Lejeune B, Duba E, Schoysman R.**
Congenital malformations after intracytoplasmic injection of spermatids. *Hum Reprod* 2000, 15: 969-971.
24. **Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Soffer Y, Komarovsky D, Ron-El R.**
Testicular sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1997,12:1488-1493.
25. **Schlegel PN, Palermo GD, Goldstein M, Menendes S.**
Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia. *Urology* 1997, 49:435-440.
26. **Hauser R, Botchan A, Amit A, Ben Yosef D, Gamzu R, Paz G, Lessing JB, Yogev L, Yavetz H.**
Multiple testicular sampling in non-obstructive azoospermia - is it necessary? *Hum Reprod* 1998, 13:3081-3085.
27. **Ostad M, Liotta D, Ye Z, Schlegel PN.**
Testicular sperm extraction for non-obstructive azoospermia: results of a multibiopsy approach with optimized tissue dispersion. *Urology* 1998, 52:692-696.
28. **Ezeh UIO, Moore HDM, Cooke ID.** A prospective study of multiple needle biopsies versus a single open biopsy for testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1998,13:3075-3080.
29. **Colpi GM.** Tecniche di prelievo chirurgico degli spermatozoi. Relazione al Congresso "Infertilità e tecniche di Procreazione Medico-Assistita. Presente e Futuro" Siena, 9-10 novembre 1998.
30. **Gil-Salom M, Romero J, Minguez Y, Molero MD, Remohi J, Pellicer A.**
Testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection: a chance of fertility in non-obstructive azoospermia. *J Urol* 1998, 160:2063-2067.
31. **Schlegel PN, Su LM.** Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum. Reprod* 1997, 12:1688-1692.
32. **Ron-El R, Strauss S, Friedler S, Strassburger R, Komarovsky D, Raziel A.** Serial sonography and colour flow Doppler imaging following testicular and epididymal sperm extraction. *Hum Reprod* 1998, 13:3390-3393.
33. **Manning M, Junemann KP, Alken P.**
Decrease in testosterone blood concentrations after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic men. *Lancet* 1998, 352:37.
34. **Schlegel PN.** Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* 1999, 14:131-135.
35. **Westlander G, Hamberger L, Hanson C, Lundin K, Nilsson L, Soderlund B, Werner C, Bergh C.**
Diagnostic epididymal and testicular sperm recovery and genetic aspects in azoospermic men.

Hum Reprod 1999, 14:118-122.

36. **Lewin A, Reubinoff B, Porat-Katz A, Weiss D, Eisenberg V, Arbel R, Bar-el H, Safran A.**

Testicular fine needle aspiration: the alternative method for sperm retrieval in non-obstructive azoospermia.

Hum Reprod 1999, 14:1785-1790.

EJACULAZIONE RETROGRADA

I pazienti con problemi di eiaculazione costituiscono un numero piccolo ma importante di uomini infertili. L'eiaculazione retrograda (ER) rappresenta una rara causa di infertilità maschile (0,4-2%), anche se pare che l'incidenza sia in aumento forse per il sempre più frequente trattamento chirurgico aggressivo delle neoplasie pelviche e genitali ¹. L'ER consiste nell'emissione, attraverso i dotti eiaculatori, di liquido seminale dopo un normale orgasmo, liquido che per una alterazione anatomica (p.e. complicanza della TUR) o funzionale (p.e. diabete mellito) non giunge all'esterno (perchè refluisce in vescica). Solo il riscontro di spermatozoi e/o fruttosio nelle urine dopo un orgasmo ci conferma la diagnosi di eiaculazione retrograda. Quando non sono evidenti spermatozoi a fresco nelle urine è necessario una centrifugazione ed analisi del pellet.

L'eiaculazione retrograda può essere distinta in *adinamica* ed *ostruttiva*, a secondo che dipenda da cause che influenzano il sistema nervoso o che alterano le strutture anatomiche.

Tra le cause neurologiche possiamo considerare:

- Sistema nervoso centrale

- Danni del midollo spinale
- Sclerosi multipla
- Mielomeningocele

- Sistema nervoso periferico

- Chirurgia addomino-pelvica (colo-rettale, prostatica, vescicale, linfadenectomia retroperitoneale)
- Simpatiectomia
- Diabete mellito
- Farmaci (prazosina, terazosina, tiazidici, aloperidolo, metadone, naproassene)

Tra le cause anatomiche possiamo considerare:

- Congenite

- Estrofia/epispadia
- Valvole dell'uretra posteriore

- Acquisite

- TURP - TUIP
- Plastica Y-V del collo vescicale
- Stenosi uretrali

- Adenomectomia prostatica

1. TERAPIA FARMACOLOGICA

I pazienti che assumono farmaci che influenzano l'eiaculazione (quali prazosina, terazosina, tiazidici, aloperidolo, metadone, naproassene) dovrebbero sospendere l'assunzione di tali farmaci o cambiarli con farmaci che non interagiscono sul nervo pudendo.

La terapia medica dell'eiaculazione retrograda si basa da un lato sull'aumento del tono simpatico a livello del collo vescicale e dall'altro sulla diminuzione dell'attività parasimpatica.

L'alfa-adrenergico imipramina idrocloruro è sicuramente il farmaco più utilizzato, sia per la scarsità degli effetti collaterali, sia per l'ampio spettro di dosaggio terapeutico. L'imipramina potenzia la stimolazione delle sinapsi adrenergiche mediante il blocco della captazione attiva della norepinefrina. Il dosaggio comunemente usato è di 25 mg due volte al giorno, anche se alcuni autori fanno uso di 25 mg quattro volte al dì.

L'alfa-simpaticomimetico pseudoefedrina aumenta direttamente la concentrazione intrasinaptica della norepinefrina nelle fibre post-gangliari. Il protocollo terapeutico più comunemente usato prevede la somministrazione orale di pseudoefedrina idrocloruro, 60 mg quattro volte al giorno. In caso di insuccesso si può aggiungere imipramina al dosaggio di 25 mg due volte al giorno.

Altri farmaci, meno comunemente usati, sono i cloridrati della fenilpropanolamina (75 mg due volte al giorno) o il solfato di efedrina (25-50 mg quattro volte al giorno).

La durata ottimale di una terapia farmacologica con un alfa-adrenergico per il trattamento dell'eiaculazione retrograda non è stata ancora stabilita. Si è dimostrato che questi trattamenti possono determinare una sensibilizzazione recettoriale, e per tale motivo è consigliabile somministrare la terapia nel periodo ovulatorio della partner: un protocollo di quattro giorni con l'ultima dose di farmaco somministrata due ore prima l'eiaculazione programmata. Tale terapia, se non produce i risultati sperati nell'arco di tre settimane, può essere sospesa. Infine, l'uso di alfa-adrenergici è, ovviamente, controindicato nei pazienti ipertesi.

Conclusioni

L'imipramina è il farmaco di scelta per il trattamento farmacologico dell'eiaculazione retrograda, eventualmente in associazione con la pseudoefedrina. In caso di fallimento dopo tre settimane di terapia se ne consiglia la sospensione.

2. RECUPERI DI SPERMATOZOI DALLE URINE COME SUPPORTO ALLA FECONDAZIONE ASSISTITA

Nei casi di fallimento della terapia farmacologica, si ricorre al recupero degli spermatozoi dalle urine e ad un loro utilizzo per tecniche di fecondazione assistita ¹.

Gli spermatozoi possono essere recuperati sia dalle urine normalmente emesse con la minzione, sia dalle urine alcalinizzate con sodio bicarbonato. Tra il liquido seminale e le urine vi sono infatti notevoli differenze fisico-chimiche, principalmente del pH (alcalino nel primo ed acido nelle seconde) e dell'osmolarità. Per alcalinizzare le urine si somministrano al paziente 650 mg di bicarbonato di sodio per os quattro volte al giorno e notevoli quantità di acqua nelle 48 ore che precedono l'eiaculazione ². Se tale procedura non dovesse risultare efficace si può ricorrere alla tecnica di Hotchkiss modificata ³, che consiste nel cateterizzare il paziente immediatamente prima dell'eiaculazione e nel drenargli la vescica, valutando con precisione il pH e l'osmolarità delle urine. Attraverso il catetere si instillano in vescica 50 ml circa di soluzione salina bilanciata di Earle tamponata con 0.25 mM HEPES. Si rimuove quindi il catetere e si invita il paziente ad eiaculare. Una volta raggiunto l'orgasmo il paziente deve raccogliere subito le urine tramite minzione. Queste vengono poi centrifugate ed il pellet risospeso in un idoneo medium. Infine si procede a tecnica di selezione degli spermatozoi mobili tramite swim-up, percoll o minipercoll o simili.

Se la preparazione biologica del seme risulta di buona qualità si potrà ricorrere a tecniche di inseminazione intracervicale o intrauterina (ovviamente la procedura va effettuata nel giorno dell'ovulazione della partner ⁴, previo monitoraggio della stessa e precedente isterosalpingografia risultata normale). In caso contrario il seme potrà essere utilizzato solo per tecniche di fecondazione assistita ad alta tecnologia (IVF, ICSI): sarà pertanto necessario ripetere la tecnica di Hotchkiss modificata il giorno del pick-up ovocitario della partner. In alternativa, gli spermatozoi possono essere subito crioconservati ed utilizzati successivamente solamente per ICSI.

Conclusioni

Quando non si riesca ad anteriorizzare l'eiaculazione con i farmaci, è necessario recuperare gli spermatozoi dalle urine ed utilizzarli per fecondazione assistita. Si consiglia come prima opzione la tecnica di alcalinizzazione delle urine; in caso di fallimento si deve ricorrere alla tecnica di Hotchkiss modificata.

Bibliografia

1. **Colpi GM, Sommadossi L, Zanollo A.** Infertility caused by retrograde ejaculation: a successfully treated case. *Andrologia* 1983, 15:592-594.
2. **Yavetz H, Yogev L, Hauser R, Lessing JB, Paz G, Homonnai ZT.** Retrograde ejaculation. *Hum Reprod* 1994, 9:381-386.
3. **Hotchkiss RS, Pinto AB, Kleegman S.** Artificial insemination with semen recovered from the bladder. *Fertil Steril* 1955, 6:37.
4. **Ranieri M, Simonetti S, Vicino M, Cormio L, Selvaggi L.** Successful establishment of pregnancy by superovulation and intrauterine insemination with sperm recovered by a modified Hotchkiss procedure from a patient with retrograde ejaculation. *Fertil Steril* 1995, 64:1039-1049.

ANEJACULAZIONE

Con il termine anejaculazione si intende l'assenza di ejaculazione anterograda o retrograda a causa di un disturbo della fase di emissione del seme dalle vie seminali e dalla prostata verso l'uretra. La vera anejaculazione è usualmente associata alla presenza di sensazione orgasmica, sebbene nelle lesioni midollari essa possa risultare alterata o ridotta. Pertanto l'anejaculazione vera non va confusa con l'anorgasmia (incapacità a raggiungere un orgasmo e quindi una ejaculazione in stato di veglia). L'anorgasmia può essere primitiva, usualmente di natura psicologica (alcuni di questi pazienti riescono sporadicamente ad ejaculare durante il sonno), oppure secondaria all'assunzione di farmaci.

L'anejaculazione vera è sempre associata ad una disfunzione del sistema nervoso centrale o periferico:

- Lesioni midollari traumatiche o iatrogene
- Cauda equina
- Linfadenectomia retroperitoneale
- Chirurgia aortoiliaca
- Chirurgia addomino-pelvica
- Sclerosi multipla
- Malattia di Parkinson
- Neuropatia autonoma (diabete giovanile)

o con l'assunzione di farmaci (antiipertensivi, antipsicotici, antidepressivi) o di alcool.

L'anorgasmia è usualmente secondaria a disfunzioni psicologiche o all'uso di farmaci antidepressivi.

Il trattamento dell'infertilità secondaria ad anejaculazione è raramente etiologico e generalmente consiste nel recuperare con procedure chirurgiche o strumentali spermatozoi da utilizzare per tecniche di fecondazione assistita.

Nella gestione clinica della coppia infertile con maschio anejaculante o anorgasmico vanno sempre tenuti in considerazione i seguenti aspetti:

- Età del paziente e della partner
- Motivazioni della coppia e accettazione delle tecniche di fecondazione assistita
- Problematiche psicologiche del paziente e della partner
- Patologie associate

Quando l'infertilità è causata da una anorgasmia primaria maschile la coppia deve assolutamente essere valutata ed eventualmente seguita da uno psicologo, al fine di evitare che una gravidanza possa far precipitare una condizione di equilibrio psicologico magari precario.

TRATTAMENTI ETIOLOGICI

- Interruzione di trattamenti farmacologici interferenti sull'orgasmo o sull'eiaculazione
- Psicoterapia per le forme di anorgasmia primitiva
- Correzione del diabete

TRATTAMENTI FINALIZZATI AL RECUPERO DI SPERMATOZOI DA UTILIZZARE PER TECNICHE DI FECONDAZIONE ASSISTITA.

1. VIBROMASSAGGIO

E' una procedura finalizzata ad indurre eiaculazione attraverso una stimolazione vibratoria focalizzata sul pene, e deve rappresentare il trattamento di prima scelta nelle forme di anejaculazione neurologica, essendo semplice, economico e sicuramente più "fisiologico" rispetto alle altre opzioni terapeutiche: infatti non richiede degenza, uso di farmaci o procedimenti chirurgici. Inoltre esso è gestibile dal paziente al proprio domicilio (dopo addestramento sotto controllo medico). Il vibromassaggio agisce attraverso una stimolazione sovralfisiologica del riflesso eiaculatorio e richiede pertanto l'integrità del centro toracico-lombare (T12-L2) deputato all'emissione seminale (contrazione peristaltica delle vie seminali e trasporto dello sperma in uretra). L'eiaculazione così ottenuta può essere anterograda, retrograda o mista (in parte anterograda e in parte retrograda). L'unico possibile effetto collaterale del vibromassaggio è rappresentato dalla disriflessia autonoma in soggetti mielolesi (spasticità, ce falea, crisi di ipertensione arteriosa, bradicardia), specie nelle lesioni sopra T6, e dall'edema del prepuzio. E' sconsigliato l'utilizzo nei pazienti con decubiti da T10 a S5, infezioni genito-urinarie in atto, lesioni cutaneo-mucose del pene.

Il vibromassaggio induce eiaculazione anterograda o retrograda nel 57.4% (599/1042) dei pazienti mielolesi¹⁻⁷.

Se il seme ottenuto con vibromassaggio risulta di buona qualità, non ci sono infezioni seminali e non sussistono rischi di disriflessia autonoma, si può prescrivere al paziente il vibromassaggio a domicilio. Il seme raccolto nel contenitore plastico viene aspirato tramite una siringa sterile senza ago da 5-10 ml e utilizzato per autoinseminazione dalla moglie nel periodo fecondo (previi ovviamente accertamenti ginecologici preliminari che documentino una normale ovulazione e pervietà tubarica, e l'assenza di infezioni). In caso contrario (seme ipofertile, infezioni seminali, complicanze da vibromassaggio), la procedura verrà eseguita nella struttura ospedaliera, ricorrendo a tecniche di fecondazione assistita a bassa tecnologia (inseminazioni intracervicali o intrauterine con seme trattato biologicamente) o ad alta tecnologia (IVF classica o ICSI).

Note di tecnica

Attualmente l'apparecchio più utilizzato in Italia è il Ferti Care[®] Personal (Multicept ApS, Vallerødvang 2, 2960 Rungsted, Denmark), dotato di variatore di frequenza e di ampiezza della vibrazione. La frequenza utilizzata nel paziente neurologico varia tra 70 e 100 Hz e l'ampiezza tra 1.6 e 2.4 mm¹. La vibrostimolazione deve essere preceduta da una accurata valutazione neurologica (attraverso anche la documentazione clinica in possesso del paziente), uro-andrologica (con l'ausilio anche di ecocolor Doppler scrotale e transrettale) e psicosessuologica del paziente. Questo tipo di approccio serve a documentare il livello sensitivo-motorio e il carattere completo o incompleto della lesione, l'equilibrio vescico-sfinterico in atto, la sterilità dell'urina ed eventuali ostruzioni delle vie seminali prossimali o distali, oltre che il trofismo gonadico. E' indispensabile inquadrare le condizioni psicologiche, sessuologiche e relazionali del paziente e/o della coppia, prima e dopo il trauma, le loro aspettative di riproduzione, spiegando con estrema chiarezza le possibilità offerte da tale procedura (e le eventuali altre alternative). Altrettanto importante è valutare la qualità dell'erezione peniena dopo il trauma, la natura riflessa o psicogena della stessa, la sua intensità e durata, l'uso eventuale di farmaci eretogeni e la possibilità di ottenere ejaculazione con stimolazione manuale intensa o protratta del pene.

Il paziente viene posto in decubito supino ed il vibratore applicato inizialmente alla radice del pene fino a che viene ottenuta un'erezione rigida. Nel caso quest'ultima non fosse raggiunta, può essere indicata l'iniezione endocavernosa di prostaglandina E1 a basso dosaggio, in quanto l'erezione rigida facilita l'esecuzione del vibromassaggio. La stimolazione viene poi focalizzata a livello del solco balano-prepuziale e sulla zona frenulare. L'ejaculazione (di solito "sgocciolante") avviene dopo un tempo variabile da 30 secondi a 10 minuti ed è

accompagnata da spasmi muscolari diffusi: il liquido seminale deve essere raccolto in un contenitore sterile per urine. Sia che l'eiaculazione avvenga, sia che non avvenga, è necessario raccogliere le urine per la ricerca e conta degli spermatozoi. In caso di eiaculazione retrograda vera si procederà, nel corso della successiva seduta, ad alcalinizzare le urine con bicarbonato di sodio o Uralyt U per evitare la morte degli spermatozoi nell'urina acida. In alternativa si può svuotare la vescica con un catetere Nelaton ed instillarvi 20 ml Ham's F10 o HTF medium per portare il pH della vescica a valori compatibili con la sopravvivenza degli spermatozoi.

Nei pazienti con lesione midollare alta (sopra T6) ed in quelli con anamnesi positiva per disreflessia autonoma è consigliabile somministrare 20 mg nifepidina sublinguale 15 minuti prima del vibromassaggio.

Bibliografia

1. **François N, Lichtenberger JM, Jouannet P, Desert JF, Maury M.** L'éjaculation par le vibromassage chez le paraplégique: à propos de 50 cas avec 7 grossesses. *Ann. Med. Phys.* 1980;23-36.
2. **Brindley GS.** Reflex ejaculation under vibratory stimulation in paraplegic men. *Paraplegia* 1981;19:299-302.
3. **Beretta G, Zanollo A, Colpi GM, Fanciullacci F, Farina U.** Il vibromassaggio nella riabilitazione genito-sessuale del medulloloso. *Minerva Urol e Nefrol* 1985; 37:203-206.
4. **Beretta G, Zanollo A.** Vibromassage in the treatment of neurologic anejaculation. *Urocinamica* 1992; 2:53-56.
5. **Ohl DA, Menge AC, Sonksen J.** Penile vibratory stimulation in spinal cord injured men: optimized vibration parameters and prognostic factors. *Arch Phys Med Rehabil* 1996; 77:903-905.
6. **Sonksen J, Sommer P, Biering-Sorensen F, Ziebe S, Lindhard A, Loft A, Andersen AN, Kristensen JK.** Pregnancy after assisted ejaculation procedures in men with spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78:1059-1061.
7. **Brackett NL, Ferrell SM, Aballa TC, Amador MJ, Padron OF, Sonksen J, Lynne CM.** An analysis of 653 trials of penile vibratory stimulation in men with spinal cord injury. *J Urol* 1998; 159:1931-1934.

2. ELETTOEJACULAZIONE

L'elettroeiaculazione rappresenta la seconda opzione terapeutica nei pazienti affetti da anejaculazione neurogena non responsiva alla vibrostimolazione e nei pazienti affetti da anejaculazione psicogena non responsiva ai trattamenti convenzionali.

Tale procedura consiste in una stimolazione elettrica diretta del plesso periprostatico che induce una eiaculazione in parte anterograda, in parte retrograda. Essendo un procedimento complesso ed eseguibile solo in una struttura ospedaliera, gli spermatozoi recuperati devono essere utilizzati per tecniche di fecondazione medicalmente assistita.

Gli spermatozoi ottenuti tramite elettroeiaculazione presentano spesso scarsa motilità, elevata percentuale di anomalie morfologiche e scarsa vitalità rispetto a quelli ottenuti con

vibromassaggio³⁻⁴. Tale fenomeno si osserva sia nei pazienti mielolesi¹ che nei pazienti affetti da una inibizione psicologica dell'eiaculazione². Le cause della dispermia sono riconducibili al ristagno di materiale spermatico nelle vie seminali, alle frequenti infezioni croniche e all'orchioptia caratteristiche dei pazienti mielolesi⁵. Alcuni ricercatori ritengono che la scarsa qualità seminale sia da imputare alla elevata concentrazione di radicali liberi dell'ossigeno nello sperma causata dall'utilizzo della corrente⁶. Le anomalie spermatozoarie sono ancor più marcate quando l'eiaculazione avviene in vescica.

La procedura consente di ottenere eiaculazione (anterograda, retrograda o mista) nel 60%-90% dei pazienti (Chung et al., 1995). Tale variabilità di risultati va ricondotta alla differente selezione dei pazienti trattati, ed alle varianti tecniche adottate nei vari Centri.

Il tasso di gravidanza è strettamente correlato alla tecnica di fecondazione assistita: con l'inseminazione intrauterina si ottiene il 6.1% per ciclo⁸⁻¹¹; con la IVF si raggiunge il 29% per ciclo^{9,10,12,13}, mentre con la ICSI si raggiunge il 38.3%^{11-14,15,16}.

Note di tecnica

La procedura viene eseguita in anestesia generale breve (senza intubazione tracheale), tranne che nei pazienti mielolesi ove la sensibilità del perineo e della mucosa rettale è del tutto assente. I pazienti con lesione midollare alta (sopra T6) e quelli con anamnesi positiva per disreflessia autonoma devono assumere 20 mg nifepidina sublinguale 15 minuti prima del trattamento. In tutti i pazienti comunque deve essere inserito un cateterino venoso e si deve monitorare la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca immediatamente prima, durante e dopo il trattamento.

Prima della elettroeiaculazione si esegue una esplorazione digitale del retto ed una anoscopia al fine di escludere lesioni della mucosa o masse fecali. I genitali esterni vengono accuratamente disinfettati e la vescica svuotata tramite un catetere Nelaton 16 F. Poiché la stimolazione elettrica può evocare eiaculazione retrograda, vanno instillati in vescica 20 ml Ham's F10 o HTF medium per favorire la sopravvivenza degli spermatozoi.

Dopo aver posto il paziente in decubito laterale sinistro, la sonda endorettale dell'elettroeiaculatore viene lubrificata con gel ed inserita con le placche elettriche orientate anteriormente, in modo tale da creare un contatto con la prostata e le vescicole seminali. La stimolazione elettrica inizia ad una intensità di 3-5 V per la durata di 3 secondi e può essere incrementata scolarmente fino a 20-25 V (una seduta dura mediamente 7 minuti). Nel corso della stimolazione un assistente monitorizza la temperatura sviluppata dalla corrente elettrica al fine di evitare ustioni della mucosa rettale (se la temperatura raggiunge velocemente i 40°

C la procedura deve essere sospesa). Lo stesso assistente medico controlla gli spasmi indotti dalla stimolazione e deve essere in grado di raccogliere in un ampio contenitore sterile di plastica il materiale spermatico che fuoriesce dall'uretra. Al termine del procedimento la vescica viene quindi svuotata, ed il materiale seminale eventualmente affluitovi inviato per trattamento biologico finalizzato a fecondazione assistita. Si ricontrolla infine l'ampolla rettale con un anoscopio per escludere lesioni locali.

Bibliografia

1. **Sedor JF, Hirsch IH.**
Evaluation of sperm morphology of electroejaculates of spinal cord-injured men by strict criteria. *Fertil Steril* 1995, 63:1125-1127.
2. **Hovav Y, Shotland Y, Yaffe H, Almagor M.**
Electroejaculation and assisted fertility in men with psychogenic anejaculation. *Fertil Steril* 1996, 66:620-623.
3. **Ohl DA, Sonksen J, Menge AC, McCabe M, Keller LM.**
Electroejaculation versus vibratory stimulation in spinal cord injured men: sperm quality and patient preference. *J Urol* 1997, 157:2147-2147-2149.
4. **Brackett NL, Padron OF, Lynne CM.**
Semen quality of spinal cord injured men is better when obtained by vibratory stimulation versus electroejaculation. *J Urol* 1997,157:151-157.
5. **Hirsch IH, McCue P, Allen J, Lee J, Staas WE.**
Quantitative testicular biopsy in spinal cord injured men: comparison to fertile controls. *J Urol* 1991, 146:337-341.
6. **Rajasekaran M, Hellstrom WJ, Sparks RL, Sikka SC.**
Sperm-damaging effects of electric current: possible role of free radicals. *Reprod Toxicol* 1994, 8:427-432.
7. **Chung PH, Yeko TR, Mayer JC, Sanford EJ, Maroulis GB.**
Assisted fertility using electroejaculation in men with spinal cord injury--a review of literature. *Fertil Steril* 1995, 64:1-9.
8. **Shaban SF, Seager SW, Lipshultz LI.**
Clinical electroejaculation. *Med Instrum* 1988, 22:77-81.
9. **Blank W, Batzofin J, Hubert G, Tan T, Tran C, Serafini P.**
Electroejaculation in an assisted reproductive treatment program. *Fertil Steril* 1991, Book of Abstracts of the 47th Annual Meeting of American Fertility Society. O-188.
10. **Tucker M, Bennett J, Bishop F, Elsner C, Green B, Kort H, Massey J, Mayer MP, Wilker S, Wright G.** Electroejaculation (EEJ) and assisted reproduction. *Hum Reprod* 1991, 6 (suppl. 1), 325-326.
11. **Yamamoto M, Yamada K, Hirata N, Hirayama A, Kashiwai H, Momose H, Suemori T, Shiomi T, Hirao Y, Okajima E.** Electroejaculation and assisted reproductive techniques in the patients with spinal cord injury. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1997,88:420-426.
12. **Elliott SL, Rainsbury PA.**
Treatment of anejaculation. In: Colpi GM & Balerna M (eds) *Treating Male Infertility: New Possibilities*. Karger, Basel, 1994:240-254.
13. **Brinsden PR, Avery SM, Marcus S, Macnamee MC.**
Transrectal electroejaculation combined with in-vitro fertilization: effective treatment of anejaculatory infertility due to spinal cord injury. *Hum Reprod* 1997,12:2687-2692
14. **Rosenlund B, Sjoblom P, Tornblom M, Hultling C, Hillensjo T.**
In-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in the treatment of infertility after testicular cancer. *Hum Reprod* 1998, 13:414-418.
15. **Chung PH, Palermo G, Schlegel PN, Veeck LL, Eid JF, Rosenwaks Z.**
The use of intracytoplasmic sperm injection with electroejaculates from anejaculatory men. *Hum Reprod* 1998,13:1854-1858.
16. **Hovav Y, Kafka I, Dan-Goor M, Yaffe H, Almagor M.**
Electroejaculation in combination with intracytoplasmic sperm injection in patients with psychogenic anejaculation results in lower fertilization rates. *Fertil Steril* 1998, 69:561-563.

3. SEMINAL TRACT WASHOUT FINALIZZATO A RECUPERARE SPERMATOZOI PER FECONDAZIONE ASSISTITA

Come già segnalato in precedenza, il seminal tract washout risulta efficace nel recupero di spermatozoi da utilizzare per fecondazione assistita nei pazienti affetti da anejaculazione neurogena secondaria a mielolesione traumatica o jatrogena, a diabete giovanile, a linfadenectomia retroperitoneale per neoplasia testicolare monolaterale e nei pazienti affetti da anejaculazione psicogena¹.

Il seminal tract washout rappresenta una alternativa alla elettroeiaculazione nei pazienti non responsivi alla vibrostimolazione. Esso non richiede apparecchiature costose, è fattibile ambulatorialmente, con o senza anestesia locale, e risulta scevro da complicanze. In casi selezionati consente il recupero di materiale seminale idoneo a tecniche di fecondazione *in-vivo* (GIFT, IUI).

Per le note di tecnica si rimanda al capitolo “*Prelievo chirurgico o strumentale di spermatozoi per fecondazione assistita: dotto deferente e vie seminali distali*”.

Tale procedura è stata utilizzata 36 volte su 34 pazienti affetti da anejaculazione neurologica o psicogena¹⁻³, consentendo il recupero di spermatozoi mobili in 33 cicli (conta spermatica mediana: 146×10^6 , range 0.1-7000; percentuale mediana di spermatozoi dotati di motilità progressiva: 12.7%, range 0-30%). Quattordici coppie hanno utilizzato gli spermatozoi per 22 cicli di fecondazione assistita (11 con spermatozoi freschi, 11 con spermatozoi crioconservati), ottenendo 7 gravidanze a termine (11 bambini sani). Le gravidanze sono state ottenute rispettivamente con 1 dei 5 cicli ICSI; con 2 degli 11 cicli ICSI con spermatozoi crioconservati; con 1 dei 5 cicli IVF; con 2 dei 3 cicli GIFT ed infine con l'unico ciclo 1 IUI (success rate: 50 % per coppia; 32% per ciclo).

Bibliografia

1. **Colpi GM, Negri L, Stamm J, Balerna M.** Full-term pregnancy obtained with sperm recovered by seminal tract washout from an anejaculating, spinal cord injured man. J Urol 1992, 148:1266-1267.
2. **Colpi GM, Negri L, Gianaroli L, Grugnetti C, Ferraretti AP, Scropo FI, Fortini D, Balerna M.** Seminal Tract Washout: a new tool for assisted conception. In: Colpi GM & Balerna M (eds) Treating Male Infertility: New Possibilities. Karger, Basel, 1994:225-232.
3. **Colpi GM, Negri L, Pariani S, Gianaroli L, Ferraretti AP, Balerna M.** Seminal tract washout as a method to recover sperm for assisted reproductive technology: a treatment for infertility due to anejaculation. Abstract of the 14th Annual meeting of the ESHRE, Goteborg 1998; Hum Reprod 1998, 13:121.

Conclusioni

Solo raramente l'anejaculazione può essere gestita con trattamenti etiologici. Nella maggior parte dei casi bisogna ricorrere a procedure finalizzate a recuperare spermatozoi per fecondazione assistita. In prima istanza va utilizzata la vibrostimolazione; se gli spermatozoi risultano di buona qualità possono essere usati dalla coppia per auto-inseminazione intravaginale: in alternativa si può ricorrere alla inseminazione intracervicale o intrauterina. Quando il seme risulta di qualità scadente è necessario utilizzare tecniche di fecondazione assistita ad alta tecnologia (IVF/ICSI). In caso di insuccesso della vibrostimolazione si può ricorrere all'elettroejaculazione o al seminal tract washout. Con queste procedure più invasive si ottengono spermatozoi nella quasi totalità dei pazienti. I successi della fecondazione assistita ad alta tecnologia con spermatozoi freschi o crioconservati oscillano tra il 29% e il 38% per ciclo.

METODI PER CRIOCONSERVARE GLI SPERMATOZOI TESTICOLARI

Si può procedere a crioconservazione di tutto il frammento di polpa testicolare, senza alcuna dispersione meccanica o enzimatica: dopo lo scongelamento il frammento viene lavato e sottoposto a dispersione meccanica con estrazione di spermatozoi.

Oppure si può eseguire la crioconservazione di tessuto testicolare già previamente sottoposto a dispersione: in tal caso dopo lo scongelamento e il lavaggio del tessuto testicolare si procede immediatamente al recupero degli spermatozoi.

Queste due metodiche risultano entrambe efficaci, specialmente quando vi siano numerosi spermatozoi nel frammento testicolare (p.e. nelle azoospermie ostruttive) ¹, sebbene un recente report indichi che la crioconservazione di tessuto testicolare preventivamente disperso preservi meglio la qualità degli spermatozoi ². La motilità di tipo "b + c" secondo il W.H.O. Manual e la vitalità infatti risultano più elevate rispetto a quanto ottenibile crioconservando l'intero pezzo chirurgico intatto (rispettivamente 9.2% vs. 4.0%, e 39.3% vs. 25.4%).

La crioconservazione di un ridottissimo numero di spermatozoi (a volte poche decine) crea spesso problemi al momento dello scongelamento delle paillettes. Di recente è stato proposto di utilizzare delle zone pellucide umane o animali private di oocita ³. Tale procedura può

risultare efficace nei pazienti affetti da azoospermia secretoria, consentendo un elevato recovery-rate al momento della ICSI e garantendo la vitalità degli spermatozoi preventivamente selezionati.

Dopo i successi ottenuti con la microiniezione intracitoplasmatica di spermatozoi testicolari freschi ⁴, sono stati pubblicati lavori scientifici che documentano la possibilità di utilizzare spermatozoi crioconservati per ICSI ⁵, con tassi di fertilizzazione, di sviluppo embrionario e di gravidanza soddisfacenti ⁶⁻⁹, sia nei pazienti con azoospermia secretoria sia in quelli con azoospermia ostruttiva ¹⁰. Tuttavia confrontando i risultati della ICSI con spermatozoi freschi vs. quelli crioconservati si è osservato che i tassi di fertilizzazione (79% vs. 71%), di impianto (25% vs. 9%) e di gravidanza (18% vs. 8%) risultavano inferiori in quest'ultimo caso ¹¹. Friedler et al (1997)¹² non hanno tuttavia riscontrato differenze statisticamente significative in termini di gravidanze evolutive e a termine utilizzando spermatozoi freschi o crioconservati in soggetti affetti da azoospermia secretoria.

Alcuni reports indicano che i risultati della ICSI con spermatozoi crioconservati non differiscono tra azoospermie secretorie ed azoospermie ostruttive ¹³. La vitalità pre-crioconservazione (63%) e dopo scongelamento (31%) risultava sovrapponibile nei due gruppi di azoospermici. Tuttavia va segnalato che mentre nel 100% dei pazienti azoospermici ostruttivi era possibile crioconservare spermatozoi, lo era possibile solo nel 36% degli azoospermici secretori.

Come già sopra riportato, la ICSI con spermatozoi crioconservati di soggetti azoospermici ostruttivi fornisce risultati soddisfacenti. La crioconservazione di spermatozoi testicolari può quindi essere effettuata di routine al momento della biopsia testicolare diagnostica, evitando al paziente di ripetere ulteriori prelievi chirurgici o strumentali al momento dei cicli ICSI. Questa indicazione vale sia per le azoospermie secretorie che per quelle ostruttive.

E' noto che l'utilizzo di spermatozoi vitali risulta essenziale per l'ottenimento di buoni risultati con la ICSI ¹⁴. Mentre la microiniezione di spermatozoi mobili non è essenziale quando si usino spermatozoi testicolari freschi, lo diventa quando si usino spermatozoi sottoposti a crioconservazione, dato che la motilità è l'unico parametro disponibile che si correla con la vitalità dello spermatozoo. Poiché la crioconservazione deprime profondamente sia la motilità che la vitalità degli spermatozoi, e poiché questo fenomeno risulta più marcato

nelle azoospermie secretorie, l'esecuzione della ICSI diventa a volte problematica in questi ultimi pazienti. L'utilizzo della pentossifillina offre la possibilità di innescare dei movimenti spermatozoari, consentendo una migliore selezione dei gameti da microiniettare, con evidenti benefici sul risultato finale ¹⁵.

Bibliografia

1 Allan JA, Cotman AS

A new method for freezing testicular biopsy sperm: three pregnancies with sperm extracted from cryopreserved sections of seminiferous tubule.
Fertil Steril 1997;68:741-744

2 Crabbe E, Verheyen G, Tournaye H, Van Steirteghem A

Freezing of testicular tissue as a minced suspension preserves sperm quality better than whole-biopsy freezing when glycerol is used as cryoprotectant.
Int J Androl 1999;22:43-48

3 Cohen J, Garrisi GJ, Congedo-Ferrara TA, Kieck KA, Schimmel TW, Scott RT

Cryopreservation of single human spermatozoa.
Hum Reprod 1997;12:994-1001

4 Nagy Z, Liu J, Cecile J, Silber S, Devroey P, Van Steirteghem A

Using ejaculated, fresh, and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection.
Fertil Steril 1995;63:808-815

5 Verheyen G, Nagy Z, Joris H, De Croo I, Tournaye H, Van Steirteghem A

Quality of frozen-thawed testicular sperm and its preclinical use for intracytoplasmic sperm injection into in vitro-matured germinal-vesicle stage oocytes.
Fertil Steril 1997;67:74-80

6 Romero J, Remohi J, Minguez Y, Rubio C, Pellicer A, Gil-Salom M

Fertilization after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa.
Fertil Steril 1996;65:877-879

7 Hovatta O, Foudila T, Sieberg R, Johansson K, von Smitten K, Reima I

Pregnancy resulting from intracytoplasmic injection of spermatozoa from a frozen-thawed testicular biopsy specimen.
Hum Reprod 1996;11:2472-2473

8 Gil-Salom M, Romero J, Minguez Y, Rubio C, De los Santos MJ, Remohi J, Pellicer A

Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa.
Hum Reprod 1996;11:1309-1313

9 Podsiadly BT, Woolcott RJ, Stanger JD, Stevenson K

Pregnancy resulting from intracytoplasmic injection of cryopreserved spermatozoa recovered from testicular biopsy.
Hum Reprod 1996;11:1306-1308

10 Perraguin-Jayot S, Audebert A, Emperaire JC, Parneix I

Ongoing pregnancies after intracytoplasmic injection using cryopreserved testicular spermatozoa
Hum Reprod 1997;12:2706-2709

11 De Croo I, Van der Elst J, Everaert K, De Sutter P, Dhont M

Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI with fresh or frozen-thawed testicular spermatozoa.
Hum Reprod 1998;13:1893-1897

12 Friedler S, Raziel A, Soffer Y, Strassburger D, Komarovsky D, Ron-el R

Intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved testicular spermatozoa in patients with nonobstructive azoospermia--a comparative study.
Fertil Steril 1997;68:892-897

13 Prins GS, Dolgina R, Studney P, Kaplan B, Ross L, Niederberger C

Quality of cryopreserved testicular sperm in patients with obstructive and nonobstructive azoospermia.
J Urol 1999, 161:1504-1506.

14 Nagy ZP, Verheyen G, Tournaye H, Van Steirteghem AC

Special applications of intracytoplasmic sperm injection: the influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI.

Hum Reprod 1998;13(Suppl 1):143-154

15 Tasdemir I, Tasdemir M, Tavukcuoglu S

Effect of pentoxifylline on immotile testicular spermatozoa.

J Assist Reprod Genet 1998;15:90-92