

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA



**Impatto della frequenza eiaculatoria sulla qualità
seminale di campioni raccolti a scopo diagnostico o
terapeutico in un centro di Procreazione
Medicalmente Assistita**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Angelo Cagnacci

Correlatore:

Prof. Claudia Massarotti

Candidato:

Lorenzo Loberti

Anno accademico 2020-2021

Alla mia famiglia e a tutti coloro

Che hanno creduto in me

Indice generale

| | |
|--|--------|
| 1. Introduzione | pag 7 |
| 2. Cause di infertilità | pag 9 |
| 2.1 Cause di infertilità maschile..... | pag 9 |
| 2.2 Fattori di rischio..... | pag 12 |
| 2.2.1 Età paterna avanzata..... | pag 12 |
| 2.2.2 Fumo di sigaretta..... | pag 13 |
| 2.2.3 Sovrappeso e obesità..... | pag 14 |
| 2.2.4 Infezioni sessualmente trasmissibili..... | pag 15 |
| 2.2.5 Stress..... | pag 16 |
| 2.2.6 Tumori..... | pag 16 |
| 2.2.7 Alcol..... | pag 16 |
| 2.2.8 Droghe..... | pag 17 |
| 2.2.9 Genetica e familiarità..... | pag 17 |
| 2.2.10 Traumi e torsioni del funicolo..... | pag 17 |
| 2.2.11 Fattori ambientali (aumento della temperatura scrotale) | pag 18 |
| 2.3 Spermioγραμμα..... | pag 18 |
| 3. Procreazione medicalmente assistita | pag 21 |
| 3.1 UIU..... | pag 21 |
| 3.2 FIVET..... | pag 22 |
| 3.3 ICSI..... | pag 22 |
| 3.4 Tecniche di preparazione del seme..... | pag 24 |

| | |
|---|--------|
| 4. Astinenza, frequenza e parametri seminali | pag 25 |
| 4.1 Volume..... | pag 25 |
| 4.2 Conta spermatica..... | pag 25 |
| 4.3 Concentrazione..... | pag 26 |
| 4.4 Motilità..... | pag 26 |
| 4.5 Morfologia..... | pag 26 |
| 4.6 pH..... | pag 27 |
| 4.7 Frammentazione del DNA..... | pag 27 |
| 4.8 Tassi di gravidanza in Procreazione Medicalmente Assistita..... | pag 27 |
| 4.9 Produzione di ROS..... | pag 28 |
| 4.10 Frequenza eiaculatoria..... | pag 29 |
| 5. Obiettivo dello studio | pag 31 |
| 6. Materiali e metodi | pag 32 |
| 7. Risultati | pag 34 |
| 8. Discussione | pag 38 |

1 INTRODUZIONE

L'infertilità è considerata dall'OMS una patologia definita come l'assenza di concepimento dopo 12 mesi di rapporti mirati e non protetti.(1)

Questa definizione è dovuta al fatto che è stato dimostrato che il 56% delle coppie concepiva nel 1° mese, il 78% delle coppie entro il 6° mese e l'86% delle coppie entro il 12° mese.

L'infertilità è un problema sociale e sanitario. L'incidenza è stimata in Italia al 15 % delle coppie in età fertile. Nel mondo l'incidenza scende a 10-12 %. In Italia, nel solo anno 2018, 70296 coppie hanno usufruito di tecniche di procreazione medicalmente assistita omologhe (di I, II e III livello), mentre 7213 hanno usufruito di tecniche di procreazione medicalmente assistita eterologhe (di I, II e III livello). (2)

L'infertilità viene distinta in:

- primaria: se nessuno dei partner riferisce precedenti gravidanze.
- secondaria: se precedentemente è stato presente un periodo di fertilità documentato da una o più gravidanze.
- terziaria: se uno dei partner ha avuto una gravidanza da una precedente relazione.

Il termine infertilità va differenziato dal termine sterilità, la quale è determinata da una condizione fisica permanente che rende impossibile il concepimento. La sub-fertilità è, invece, definita da un ridotto grado di fertilità.

L'infertilità riguarda la coppia ma spesso è trattata come un problema di genere. Studi epidemiologici hanno stabilito che nel 30% dei casi di infertilità è dovuta all'uomo ed un 20% è dovuto sia al genere maschile che a quello femminile. L'uomo risulta quindi coinvolto nel 50% dei casi di infertilità. (3)

Per avere una stima dell'incidenza dell'infertilità nella popolazione ci si può avvalere di metodi di tipo diretto o indiretto.

Per avere un'analisi indiretta si prendono in considerazione il numero di coppie in età fertile senza figli; questa valutazione può portare ad una sovrastima dei dati, perché il non

avere figli può essere solamente dovuto ad una scelta e non è per forza collegabile ad una condizione di infertilità.

Per avere un dato più rappresentativo bisogna ricorrere a stime di tipo diretto. Queste sono basate su questionari somministrati a popolazioni o a gruppi campione. Le indagini di tipo diretto escludono dalla stima indiretta tutte le coppie che, volontariamente, hanno deciso di non procreare. Verranno considerate, quindi, solamente le coppie affette da infertilità primaria, secondaria o terziaria.

Nel mondo, la forma più comune di infertilità è quella secondaria dovuta a cause femminili. Questo dato è maggiormente evidente nei paesi con un alto tasso di aborti praticati in condizioni igieniche pericolose e con una bassa assistenza alla maternità.(3)

2 CAUSE DI INFERTILITA'

Possiamo, quindi, classificare l'infertilità in base alle cause, distinguendo:

- cause legate all'uomo (30 %)
- cause legate alla donna (35 %)
- cause legate alla coppia (20 %)
- cause idiopatiche (15%)

Sommando quindi il potenziale di fecondità dei partner si ottiene un potenziale di fecondità di coppia. Non è esclusa la possibilità che una coppia con diagnosi di infertilità possa procreare avendo rapporti sessuali con partner diversi. (4)

2.1 Cause di infertilità maschile

La fertilità maschile è garantita da:

- Produzione di sperma. Questo deve avere determinate caratteristiche qualitative e quantitative (volume, motilità, vitalità e concentrazione).
- Eiaculazione che può essere alterata da ostruzioni post-testicolari o da disfunzione erettile.

Le cause dell'infertilità si possono suddividere in pre-testicolari, testicolari e post-testicolari.

Pre-testicolari:

- Patologie ipotalamiche:
 1. Sindrome di Kallman: è caratterizzata da ipogonadismo, pubertà ritardata e infertilità. Associate a queste si possono avere anosmia, diminuzione del volume testicolare e agenesia renale. Può essere una patologia autosomica o X-linked

2. **Sindrome di Prader-Willy:** si presenta con obesità, ritardo mentale, ipogonadismo, ipotonia e estremità molto piccole. È una malattia autosomica dominante.
 3. **Sindrome di Bardet-Biedl:** si manifesta con ritardo mentale, retinite pigmentosa, polidattilia e ipogonadismo. È una malattia autosomica recessiva
 4. **Deficit isolato di gonadotropine**
 5. **Cause idiosincrasiche**
- **Patologie ipofisarie:**
 1. **Insufficienza ipofisaria:** da tumori, infarti, radiazioni, chirurgia e processi infiltrativi
 2. **Iper-prolattinemia**
 3. **Cause esogene:** dovute a somministrazione esogena di androgeni o estrogeni

Cause testicolari:

- **Malattie genetiche**
 1. **Micro-delezioni del cromosoma Y**
 2. **Sindrome di Klinefelter (XXY):** è un'aneuploidia che causa azoospermia, testicoli ridotti in volume e ginecomastia. Può essere associata a ritardo mentale, obesità, diabete, leucemie e carcinoma della mammella.
 3. **Sindrome del maschio XX:** è una variante della sindrome di Klinefelter. Si presenta con ginecomastia, azoospermia e possibile ritardo mentale.
 4. **Sindrome di Jacobs (XYY):** è una patologia che si presenta con elevati livelli di FSH e azoospermia.
 5. **Sindrome di Noonan:** è definita "sindrome di Turner maschile". Il cariotipo può essere normale (XY) o a mosaico (X/XY) e può presentare anomalie cardiovascolari e criptorchidismo.
 6. **Distrofia miotonica:** è una patologia che si presenta con cataratta, atrofia muscolare ed infertilità. (5) (6)

- Malattie sistemiche:
 1. Insufficienza renale cronica: l'uremia, derivante dall'insufficienza renale cronica, è associata ad infertilità, diminuzione della libido, disfunzione erettile e ginecomastia.
 2. Cirrosi: può causare alterazioni della spermatogenesi sia tramite l'aumento della temperatura in caso di epatiti, sia tramite l'effetto tossico che esercita l'alcol sul testicolo e sia tramite l'aumento dell'aromatizzazione del testosterone con diminuzione del testosterone ed aumento degli estrogeni.
 3. Anemia falciforme: l'infertilità può essere dovuta alla formazione di micro-infarti nei testicoli.
 4. Diabete mellito: correla con malattie cardiovascolari e neurologiche associandosi ad infertilità.
 5. Danno testicolare: da orchiti, torsioni testicolari e traumi testicolari.
 6. Criptorchidismo: è la mancata discesa di uno o entrambi i testicoli. L'aumento della temperatura scrotale può portare ad infertilità. C'è, inoltre, un aumento del rischio di carcinoma testicolare.
 7. Varicocele: è la dilatazione patologica delle vene testicolari del plesso pampiniforme. È una patologia associata ad atrofia testicolare e, di conseguenza, sub-fertilità.
 8. Cause idiopatiche
- Utilizzo di sostanze gonadotossiche: radiazioni, farmaci e droghe (5) (6)

Cause post-testicolari:

- Ostruzione del tratto riproduttivo:
 1. Ostruzioni congenite:
 - Fibrosi cistica: malattia autosomica recessiva. Si presenta con un'ostruzione cronica polmonare, infezioni polmonari, insufficienza pancreatica e infertilità. Nel 95 % degli uomini affetti da fibrosi cistica c'è l'assenza bilaterale dei dotti deferenti. In aggiunta, epididimo, vescicole seminali e dotti eiaculatori possono essere atrofici o assenti.
 - Sindrome di Young: si presenta con sinusiti croniche, bronchiectasie e azoospermia ostruttiva
 - Ostruzione idiopatica dell'epididimo

- Sindrome del rene policistico dell'adulto: malattia autosomica dominante con cisti in diversi organi. Tra questi: epididimo, vescicole seminali e testicolo.
- Ostruzione dei dotti eiaculatori
- 2. Ostruzioni acquisite:
 - Vasectomia
 - Chirurgia inguinale
 - Infezioni batteriche
- 3. Ostruzioni funzionali: un esempio è in seguito a dissezione dei linfonodi retroperitoneali per carcinoma testicolare
- Disordini della motilità e della funzionalità dello sperma:
 1. Sindrome delle ciglia immobili: anche detta sindrome di Kartagener. Malattia autosomica recessiva che si presenta con bronchiectasie, rinosinusiti e possibile situs inversus loci.
 2. Infertilità immunologica
 3. Infezioni
- Disordini dell'eiaculazione:
 1. Impotenza: può essere dovuta a cause traumatiche, cardiovascolari, neurologiche, ormonali, anatomiche, da farmaci, psicogene e da abitudini di vita quali alcol, fumo e droghe.
 2. Ipospadi: anomalia congenita del pene da cui deriva un insufficiente sviluppo dell'uretra, il cui meato esterno si colloca nella faccia ventrale del pene. (5) (6)

2.2 FATTORI DI RISCHIO

2.2.1 Età paterna avanzata

L'età paterna avanzata è generalmente definita come un'età maggiore a 40 anni. Come risultato di una maggiore aspettativa di vita, un incremento del numero di divorzi, l'accesso a tecniche di procreazione medicalmente assistita e vari fattori socioeconomici, l'età paterna è aumentata di molto.

Numerosi studi hanno dimostrato una correlazione fra età paterna avanzata e un declino della fertilità, oltre che a un aumento del tasso di aborti.

Questo può essere dovuto ad un peggioramento della qualità dello sperma con l'età. Infatti, con l'aumentare dell'età diminuiscono parametri seminali quali: volume, concentrazione, motilità e numero di spermatozoi morfologicamente normali, associati ad una maggiore frammentazione del DNA.

Nel contesto della procreazione medicalmente assistita, invece, l'età paterna avanzata è collegata ad una scarsa qualità degli embrioni, ad un calo del numero di gravidanze e ad una riduzione dei tassi di impianto.

L'età paterna avanzata è inoltre collegata a diverse alterazioni nel bambino. Si possono infatti avere: mutazioni de novo, aneuploidie, malattie x-linked, copy numbers variations (CNV), una maggiore incidenza di tumori pediatrici (tra questi: leucemie, linfomi non-Hodgkin, linfomi, neoplasie del sistema nervoso centrale e tumori della mammella), complicazioni ostetriche (quali pre-eclampsia), acondroplasia, autismo, schizofrenia e disturbo bipolare.

I meccanismi secondo i quali si crede che l'età paterna possa influenzare la fertilità sono diversi. Innanzitutto, avremo una diminuzione del volume testicolare, un aumento del FSH correlato ad una diminuzione del testosterone, un ispessimento della membrana basale testicolare, una diminuzione delle cellule di Leydig e del Sertoli ed una alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo. (7) (8)

2.2.2. Fumo di sigaretta.

Ogni anno circa 6 milioni di persone muoiono a causa del fumo attivo e del fumo passivo. Circa un terzo degli uomini fuma, mentre nelle donne in età fertile l'incidenza del fumo è del 30 %.

I primi effetti sulla fertilità femminile sono stati documentati nel 1983. L'effetto del fumo sulla fertilità, sia maschile che femminile, è correlato al pack/year ed è quindi un danno dose-dipendente.

Questo effetto sulla fertilità è dovuto all'inalazione di sostanze quali: idrocarburi policiclici aromatici, nicotina, cadmio e arsenico. Si può avere un effetto sulla fertilità, in soggetti fumatori, nonostante possano non esserci differenze significative di parametri quali: volume, motilità e concentrazione dello sperma. Sono però state evidenziate, in

buona parte dei soggetti fumatori, alterazioni della morfologia, diminuzione della concentrazione e diminuzione della motilità dei spermatozoi.

I meccanismi tramite i quali si ha una diminuzione della fertilità maschile sembrano essere dovuti ad alterazione dei microtubuli, della capacitazione e della reazione acrosomiale, ipossia, aumento dei ROS e disfunzione delle cellule di Leydig e delle cellule di Sertoli.

Secondo la American Society of Reproductive Medicine, i parametri seminali e la funzionalità dello sperma hanno una riduzione del 22 % nei soggetti fumatori rispetto ai soggetti non fumatori.

Studi animali hanno inoltre dimostrato che la cessazione del fumo può portare ad un miglioramento della salute sessuale maschile nel lungo termine. (9)

2.2.3. Sovrappeso e obesità.

Coppie con un partner in sovrappeso o obeso, presentano tempi per il concepimento più lunghi e una riduzione delle gravidanze rispetto alla popolazione generale, anche ricorrendo a tecniche di fecondazione medicalmente assistite.

Si considera sovrappeso un soggetto con un Body Mass Index maggiore a 25, mentre si considera obeso un soggetto con un Body Mass Index maggiore a 30. Il sovrappeso ha un tasso del 35 % negli uomini, mentre nelle donne sale al 40 %.

La correlazione tra infertilità ed obesità può essere dovuta ad alterazioni ormonali, ad elevati livelli di ROS e ad un aumento della temperatura scrotale.

Infatti, i livelli di testosterone e di SHBG sono ridotti nel paziente obeso. Inoltre, sono stati riscontrati, in questi soggetti, elevati livelli di estradiolo, dovuti ad un' aumentata aromatizzazione del testosterone da parte del tessuto adiposo bianco.

Nei pazienti obesi sono presenti anche elevati livelli di leptina che sono associati, in modelli animali, ad una resistenza all'ormone stesso. La leptina essendo legata alla secrezione del GnRH e alla regolazione della secrezione del testosterone dalle cellule di Leydig, può essere associata ad infertilità se i suoi livelli aumentano significativamente.

Gli elevati livelli di ROS dovuti all'obesità si correlano ad una diminuzione della concentrazione e della motilità dello sperma, oltre che ad una alterata morfologia e ad una maggiore frammentazione del DNA.

È stato inoltre dimostrato che, in pazienti obesi, 14 settimane di dieta ed esercizio fisico possono portare ad un miglioramento di parametri quali: concentrazione dello sperma, morfologia degli spermatozoi, livelli di testosterone, livelli di SHBG e ad un miglioramento del rapporto testosterone/estradiolo. (10)

2.2.4. Infezioni sessualmente trasmissibili.

Tra le varie cause d'infertilità maschile si stima che tra l'8 e il 35 % siano correlate ad infezioni del tratto urogenitale. È stato dimostrato che i microrganismi compromettono la qualità dello sperma alterando caratteristiche quali la vitalità, la morfologia e la motilità.

Tra i microorganismi più associati all'infertilità sono presenti *Mycoplasma genitalium* e *Ureaplasma urealyticum*. La correlazione tra un'infezione da *Mycoplasma genitalium* ed infertilità è stata dimostrata avere un OR = 3,27, mentre la correlazione tra l'infezione di *Ureaplasma urealyticum* e l'infertilità ha un OR = 3,03. (11)

Per quanto riguarda le infezioni batteriche esiste un'associazione tra l'infezione asintomatica di *C. Trachomatis* ed una ridotta fertilità nell'uomo.

C. trachomatis influenza la qualità del liquido seminale per azione diretta del microrganismo sugli spermatozoi e tramite l'aumento dei ROS nel tessuto testicolare che porta ad apoptosi cellulare. Inoltre, l'infezione persistente della *C. trachomatis* può provocare la cicatrizzazione dei dotti eiaculatori. È stato inoltre dimostrato come un ciclo di antibiotici (doxiciclina 100 mg per os, due volte al giorno per sette giorni) porti ad un miglioramento del volume e della motilità dello sperma. (12)

Altri batteri responsabili di infezioni dell'apparato urogenitale correlate a infertilità sono: *Neisseria gonorrhoea*, *Ureaplasma urealyticum*, *E. coli* e *Mycoplasma genitalium*.

Le infezioni virali croniche sono da considerarsi fattori di rischio sia per l'uomo che per la coppia. I principali virus capaci di ridurre la qualità del liquido seminale sono: HBV, HCV, HIV, HSV, CMV, AAV e HPV.

2.2.5. Stress.

Circa il 21 % degli uomini con età superiore a 16 anni ha sperimentato alti livelli percepiti di ansia. Lo stress è correlato a malattie quali: ipertensione arteriosa, obesità e depressione.

Le pressioni sociali e famigliari ed i rapporti mirati per una ricerca di gravidanza possono causare un aumento dei livelli di stress.

Nonostante l'apparato genitale maschile sia molto sensibile allo stress e fosse stato ipotizzato un suo ruolo nell'infertilità, questo è stato recentemente messo in discussione da nuovi studi. (13)

2.2.6. Tumori

I tumori possono incidere sulla fertilità sia direttamente che indirettamente.

Il tumore del testicolo è il più studiato per quanto riguarda il meccanismo diretto. È infatti associato ad un calo del volume, della motilità e ad alterazioni della morfologia. Sembra inoltre esserci una correlazione tra l'infertilità e il rischio di vari carcinomi testicolari. Tra questi, l'infertilità sembra essere correlata ad un maggiore rischio di Linfoma non Hodgkin testicolare. È stato inoltre sottolineato un collegamento tra infertilità ed il rischio di carcinoma prostatico.

Il meccanismo indiretto è invece collegato alle terapie antitumorali che possono risultare gonadotossiche. (14)

2.2.7. Alcol

L'abuso di alcol può bloccare la spermatogenesi e ridurre la funzionalità sessuale per inibizione della sintesi del testosterone. Inoltre, l'alcol può causare cirrosi epatica, che è causa di infertilità.

Tra i parametri seminali alterati si hanno il volume, concentrazione, motilità e morfologia dello sperma, oltre ad una riduzione dei livelli di testosterone.

I meccanismi che portano ad infertilità sembrano essere legati ad un aumento dei leucociti nel liquido seminale.

Inoltre, anche l'utilizzo materno di alcol durante la gravidanza sembra essere collegato ad infertilità maschile in età adulta. (9)

2.2.8. Droghe

Un uomo su quattro sotto i 35 anni utilizza droghe a scopo ricreativo. Tra le droghe correlate ad infertilità si pone maggiore attenzione all'utilizzo di Marijuana e a quello degli oppioidi.

La marijuana impatta sulla fertilità tramite l'alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi. Recettori dei cannabinoidi sono inoltre espressi nelle cellule ipotalamiche, nelle cellule del Sertoli e nelle cellule di Leydig.

Gli oppioidi, invece, agiscono sull'asse ipotalamo-ipofisi-gonade inibendo la secrezione pulsatile di GnRH. Inoltre, il decadimento dello stato di salute dovuto all'abuso di oppioidi, potrebbe anch'esso essere correlato ad infertilità. (9)

2.2.9. Genetica e familiarità

Tra le cause genetiche, congenite e famigliari di infertilità viene sottolineato il ruolo di malattie quali: varicocele, criptorchidismo, sindrome di Klinefelter (47, XXY), varianti della Klinefelter, sindrome di Kallman, sindrome di Reifeinstein, sindrome di Morris, atresia bilaterale congenita dei dotti deferenti, fibrosi cistica, sindrome di Lynch e micro-delezioni del cromosoma Y. (14)

2.2.10. Traumi e torsioni del funicolo

I traumi raramente possono portare infertilità. Questa può essere però la conseguenza di incidenti sportivi, sul lavoro e automobilistici che danneggiano il testicolo.

La torsione del testicolo si verifica quando il testicolo e il dotto seminale ruotano intorno al proprio asse causando uno strangolamento dell'apporto ematico. Anche questa evenienza, però, raramente porta ad infertilità. (15)

2.2.11. Fattori ambientali (aumento temperatura scrotale)

La temperatura ideale per il funzionamento testicolare è di due gradi inferiore rispetto a quella addominale. Vengono quindi considerati come fattori di rischio tutte le situazioni che determinano un aumento della temperatura scrotale, esempi potrebbero essere il continuo utilizzo del PC sulle gambe e la frequentazione costante di saune. (16)

2.3 SPERMIOGRAMMA

Standard minimi di adeguatezza del seme sono:

- Volume maggiore di 1,5 mL
- Concentrazione dello sperma maggiore di 15×10^6 spermatozoi/ml
- Motilità maggiore del 40%
- Motilità progressiva > 30%
- Morfologia normale degli spermatozoi maggiore del 4 %. Alterazioni della morfologia possono colpire la porzione della testa, di testa-collo, di parte intermedia e del flagello
- pH maggiore di 7,2
- Vitalità maggiore del 58 %

- WBC minori di 1×10^6 WBC per mL (5) (17)

La distribuzione dei parametri seminali nei pazienti sottoposti a valutazione di infertilità per incidenza:

- Normali: 55 %
- Motilità anormale: 26 %
- Astenospermia: 24 %. È la ridotta o assente mobilità degli spermatozoi nell'ejaculato. Può essere iatrogena o dovuta a lunga astinenza.
- Oligospermia: 8 %. Definita da una densità dello sperma minore di 15×10^6 /mL. Le cause sono vastissime e nella maggior parte dei casi è presente una concomitanza di più cause.
- Agglutinazioni: 2 %. Si verificano quando gli spermatozoi mobili aderiscono gli uni agli altri. Suggestiscono un fattore immunologico coinvolto nell'infertilità.
- Volume alterato: 2 %.
- Morfologia anormale: 1 %.
- Azoospermia: 8 %. La diagnosi deve essere confermata da due campioni di seme centrifugati in modo da escludere oligospermie severe. Può essere dovuta a cause pre-testicolari, testicolari e post-testicolari. Le cause pre-testicolari sono principalmente endocrine e possono essere congenite (come la sindrome di Kallman) o ipogonadismi ipogonadotropi acquisiti. Le testicolari derivano da anomalie genetiche (come micro-delezioni del cromosoma Y), da danno testicolare varicocele indotto, farmaci gonadotossici e infertilità idiopatica. Tra le cause di azoospermia post-testicolari troviamo invece disfunzioni eiaculatorie e

ostruzioni dei dotti deferenti. Le cause post-testicolari comprendono il 40% dei casi di azoospermia. (15) (18)

Le tecniche di procreazione medicalmente assistita si dividono in tecniche di primo livello come l'induzione dell'ovulazione a cui seguiranno rapporti mirati e l'Inseminazione intrauterina (IUI) e tecniche di secondo livello quali Microiniezione Intracitoplasmatica di Spermatozoi (ICSI) e fecondazione in vitro con trasferimento in utero di embrioni (IVF/FIVET). Le tecniche di procreazione medicalmente assistita si possono poi distinguere in tecniche omologhe ed eterologhe. Le tecniche omologhe utilizzano i gameti di entrambi i partner mentre le tecniche eterologhe utilizzano gameti donati. (19) (20)

In Italia la PMA è regolamentata dalla legge n. 40 del 19 Febbraio 2004 che, inizialmente, prevedeva solamente le tecniche di procreazione medicalmente assistita omologhe. Successivamente, nel 2014, questa legge ha subito modifiche consentendo il ricorso a tecniche di procreazione medicalmente assistita eterologhe. (21)

Le tecniche di procreazione medicalmente assistita possono essere eseguite a fresco o con gameti ed embrioni crioconservati.

3.1 IUI

La tecnica prevede di utilizzare un campione di sperma e successivamente inserire il liquido seminale nella cavità uterina mediante un catetere in prossimità del ciclo mestruale della paziente. L'inseminazione omologa utilizza il liquido seminale del partner mentre quella eterologa utilizza il liquido seminale di un donatore.

Le indicazioni sono: infertilità inspiegata, fattore maschile lieve, endometriosi in stadio I e II e fattore cervicale.

I farmaci utilizzati sono essenzialmente gonadotropine ricombinanti per permettere la selezione di più follicoli e, circa 36 ore prima l'intervento, l'iniezione di hCG per indurre l'ovulazione.

La IUI può essere effettuata su un ciclo spontaneo o si può indurre l'ovulazione tramite farmaci. Il tasso di successo si aggira intorno al 10-15% per ciclo.

Le complicanze di questa tecnica sono legate all'utilizzo dei farmaci che possono portare ad una condizione di iperstimolazione dell'ovaio e a gravidanze multiple. (19) (20)

3.2 FIVET

La FIVET prevede un'induzione dell'ovulazione multipla nella donna tramite gonadotropine ricombinanti ed un successivo pick-up degli ovociti. Ovociti e spermatozoi vengono successivamente posti in un terreno di coltura per favorire la fertilizzazione dell'ovocita.

Entro circa 72 ore dalla formazione dell'embrione questo viene introdotto in utero per via vaginale in modo da favorirne l'annidamento.

Questa tecnica ha diverse indicazioni: ostruzione tubarica bilaterale, endometriosi, fattore maschile medio, infertilità inspiegata e precedente insuccesso di tecniche di I livello.

Le complicanze oltre alla iperstimolazione ovarica e al rischio di gravidanze multiple possono essere dovute alla procedura di pick-up ovarico e sono rappresentate da emorragie. Inoltre, ci potrebbe essere un rischio maggiore di gravidanze ectopiche. (19) (20)

Il tasso di successo della FIVET si aggira intorno al 28,4 %. (22)

3.3 ICSI

L'ICSI come la FIVET prevede un'induzione dell'ovulazione multipla nella donna ed un pick-up degli ovociti. Successivamente si procede all'iniezione di uno spermatozoo selezionato all'interno di un ovocita. L'embrione così formatosi potrà poi essere introdotto in utero entro 72 o 120 ore dalla sua formazione.

Le indicazioni per l'utilizzo di questa tecnica sono fattore maschile grave, endometriosi, fattore maschile medio, infertilità inspiegata e precedente insuccesso di tecniche di I livello.

Le complicanze della tecnica ICSI sono sovrapponibili alle complicanze della FIVET. (19) (20)

Il tasso di successo della FIVET si aggira intorno al 27,4 %. (22)

Tabella 1: percentuali di gravidanze ottenute tramite tecniche a fresco (FIVET e ICSI) con donazione omologa su cicli iniziati (IC al 95%), su prelievi effettuati e su trasferimenti eseguite nell'anno 2016. (22)

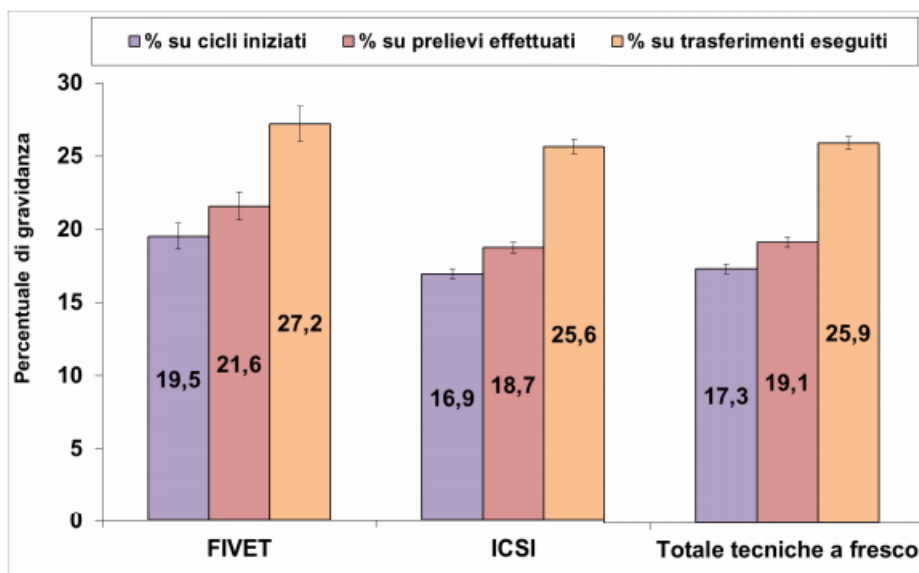
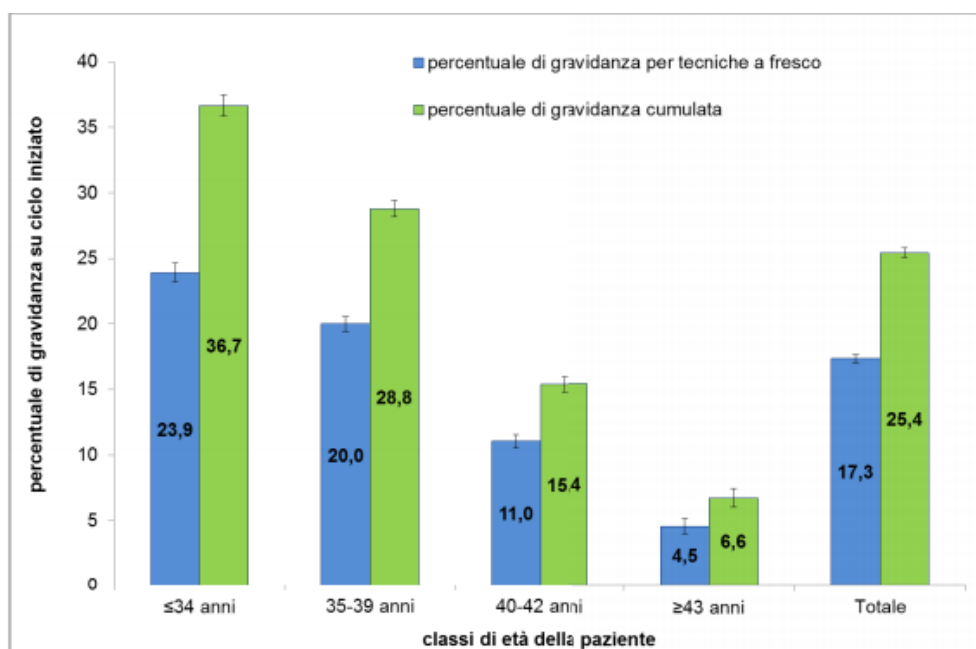


Tabella 2: distribuzione delle gravidanze, sia a ciclo iniziato che di gravidanze cumulate con tecniche di donazione omologa di gameti, nelle diverse classi di età delle pazienti nell'anno 2016 (IC al 95%). (22)



3.4 Tecniche di preparazione del seme

Le tecniche di preparazione del seme consistono in due metodiche: gradiente discontinuo e swim up.

Il gradiente discontinuo viene utilizzato in caso di seme con motilità ridotta. Si utilizzeranno quindi due gradienti: uno a bassa densità ed uno ad alta densità. Verranno così selezionati gli spermatozoi con una motilità maggiore ed una morfologia migliore.

Lo swim-up viene utilizzato in caso di liquido seminale di qualità migliore rispetto al precedente. Verrà utilizzato un terreno di coltura che agevolerà la migrazione degli spermatozoi di qualità migliore. (23) (24)

Inoltre, in caso di difficoltà di eiaculazione del paziente o in caso di liquido spermatico privo di spermatozoi, si può ricorrere all'aspirazione percutanea di spermatozoi dall'epididimo (PESA). Altre tecniche utilizzabili sono l'estrazione spermatica testicolare tramite biopsia (TESE) e l'aspirazione di spermatozoi dal testicolo (TESA).

Sono presenti in letteratura diversi studi, anche se, in alcuni casi con risultati contrastanti, sull'impatto dell'astinenza sessuale sui parametri seminali. Diversi studi hanno infatti dimostrato che, con il diminuire dei giorni di astinenza, diminuiscono anche il volume seminale e la conta spermatica.

Al contrario, studi sull'impatto della frequenza sessuale sui parametri seminali sono esigui e, anche in questo caso, parecchio discordanti.

Gli studi condotti su altri parametri quali motilità, morfologia, vitalità, frammentazione del DNA e tassi di fertilizzazione e fertilità, hanno dato risultati discordanti.

4.1 Volume

Sono stati fatti diciassette studi sulla correlazione tra il volume dello sperma e l'astinenza. Di questi, quindici studi hanno dimostrato un aumento statisticamente significativo del volume con periodi di astinenza maggiori a cinque giorni. Solamente due di questi studi non hanno trovato una correlazione significativa ma uno di questi studi ha valutato una coorte di pazienti affetti da oligospermia e non la popolazione generale. (25)

Questa correlazione sembra essere dovuta all'insufficienza delle ghiandole sessuali accessorie di contribuire significativamente al volume spermatico. (26)

4.2 Conta spermatica

Undici studi hanno dimostrato una correlazione inversa tra i giorni di astinenza e la conta spermatica. Tuttavia, nessuno di questi studi ha valutato la concentrazione dello sperma ma solamente la conta spermatica. (25)

4.3 Concentrazione

Nei ventuno studi effettuati sulla concentrazione è stata dimostrata una linearità tra l'astinenza ed una maggiore concentrazione spermatica. Questa linearità però è dimostrabile in periodi di astinenza inferiori ai cinque con un picco della stessa tra il quarto ed il quinto giorno. (26)

4.4 Motilità

Riguardo la motilità sono stati pubblicati ventitré studi con risultati contrastanti fra loro. Infatti, dieci di questi studi non sono riusciti a dimostrare una significativa alterazione della motilità al variare dei giorni di astinenza. Al contrario, tredici di questi studi sono riusciti nel dimostrare un significativo effetto dell'astinenza sulla motilità. Di questi tredici, però, indicavano un picco della motilità tra il primo ed il terzo giorno di astinenza, mentre i restanti tre indicavano il picco di motilità tra il quarto ed il quinto giorno di astinenza. (25)

4.5 Morfologia

In merito alla morfologia sono stati effettuati sedici studi. Anche in questo caso i risultati sono stati discordanti. Infatti, undici di questi studi non hanno dimostrato un significativo miglioramento del parametro al variare dei giorni di astinenza. Tuttavia, tutti questi studi non hanno valutato l'impatto su pazienti con parametri seminali alterati come i pazienti affetti da oligospermia o astenospermia. Cinque studi sono invece riusciti a dimostrare una correlazione tra il miglioramento del parametro ed il diminuire dei giorni di astinenza. Ciononostante, non si è riusciti a trovare consenso sull'astinenza ideale per massimizzare la morfologia. Di questi cinque studi, tre hanno valutato l'effetto dell'astinenza sia sulla popolazione sana, sia su pazienti con conosciuta oligospermia. (25)

4.6 pH

In merito al pH si è riusciti a trovare un consenso. Infatti, dei tre studi che valutavano il parametro tutti hanno dimostrato che non ci sono alterazioni significative tra il variare dei giorni di astinenza ed il pH. (25)

4.7 Frammentazione del DNA

La frammentazione del DNA è stata valutata in otto studi utilizzando diverse tecniche come la citometria a flusso ed il test della dispersione cromatinica. Anche in questo caso quattro studi non hanno dimostrato nessuna correlazione, mentre i restanti quattro hanno trovato un'associazione significativa tra un ridotto tempo di astinenza ed una minore frammentazione del DNA. Il picco di minor frammentazione del DNA è stato identificato per un'astinenza minore a ventiquattro ore. (25)

4.8 Tassi di gravidanza in Procreazione Medicalmente Assistita

Solamente tre studi sono stati effettuati in merito. Questi hanno trovato un'associazione significati tra una ridotta astinenza ed un maggior tasso di successi sia in inseminazione intrauterina (IUI), sia nella Microiniezione Intracitoplasmatica di Spermatozoi (ICSI) e sia nella fecondazione in vitro (IVF). (25)

In relazione alla tecnica IUI è stato dimostrato un miglioramento dell'outcome per un'astinenza minore ai tre giorni mentre la tecnica IVF è stata dimostrata avere un migliore outcome per periodi di astinenza tra i trenta ed i sessanta minuti precedenti alla donazione. (25)

In uno studio che metteva a confronto il tasso di successo della tecnica ICSI in soggetti con un'astinenza maggiore e minore di quattro giorni, è stato dimostrato che il gruppo con un'astinenza minore ai quattro giorni aveva un più alto tasso di fecondazione, una più alta qualità di embrioni al terzo giorno, una maggiore formazione di blastocisti al quinto giorno ed un maggior tasso di impianto e gravidanza rispetto al gruppo con astinenza maggiore ai quattro giorni. (27)

Tabella 3: analisi dei parametri seminali e degli outcome della tecnica ICSI in relazione al periodo di astinenza (maggiore o minore di quattro giorni) (27)

| | EA ≤ 4 days | EA > 4 days | p-value |
|---|--------------|--------------|---------|
| Semen parameters^a | | | |
| Semen volume (mL) | 2.9 ± 0.1 | 3.4 ± 0.1 | 0.002 |
| Sperm concentration (×10 ⁶ /mL) | 60.1 ± 3.9 | 73.9 ± 4.2 | 0.015 |
| Total sperm count (×10 ⁶) | 156.1 ± 12.8 | 244.6 ± 13.8 | <0.001 |
| Total sperm motility (%) | 59.4 ± 1.1 | 60.9 ± 1.2 | 0.360 |
| Progressive sperm motility (%) | 50.7 ± 1.2 | 53.4 ± 1.3 | 0.126 |
| TMSC (×10 ⁶) | 87.9 ± 7.7 | 136.2 ± 7.7 | <0.001 |
| Morphology (%) | 1.4 ± 0.1 | 1.5 ± 0.1 | 0.669 |
| SDF (%) | 16.8 ± 0.7 | 19.2 ± 0.8 | 0.028 |
| ICSI outcomes | | | |
| Fertilization rate ^b | 85.5 ± 2.2 | 77.3 ± 2.7 | 0.021 |
| High-quality embryos rate on day 3 ^b | 56.8 | 41.6 | 0.022 |
| Blastocyst formation rate on day 5 ^b | 50.2 ± 4.7 | 35.6 ± 4.9 | 0.046 |
| Implantation rate ^{bc} | 24.8 ± 4.1 | 7.3 ± 4.3 | 0.005 |
| Pregnancy rate ^{bc} | 40.0 | 10.0 | 0.016 |
| Miscarriage rate ^{bc} | 10.8 | 8.8 | 0.548 |

ICSI: intracytoplasmic sperm injection; EA: ejaculatory abstinence; TMSC: total motile sperm count; SDF: sperm DNA fragmentation. Values are means ± standard deviations unless otherwise noted. ^aAdjusted for male age and smoking habit; ^badjusted for maternal and paternal ages, smoking habits and body mass index, seminal parameters, total dose of FSH administered, estradiol levels on the day of hCG administration, number of oocytes and mature oocytes; ^cadjusted for number of transferred embryos.

4.9 Produzione di ROS

In termini di produzione di ROS tre sono gli studi che hanno esaminato la loro produzione in correlazione all'astinenza, mentre uno ha valutato la concentrazione di ROS nello sperma. In tutti è stata dimostrato una minor produzione ed una diminuzione dei livelli di ROS con il decrescere dell'astinenza. (26)

Tabella 4: dettagli di diversi studi sull'impatto dell'astinenza sessuale sui parametri seminali (25)

| Study author | Year | Volume | Count | Peak motility (abstinence time) | Peak morphology (abstinence time) | pH | DNA fragmentation | Viability | Peak ART outcomes (abstinence time) |
|-----------------------|------|-----------|-------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------------------------|
| Agarwal et al. | 2016 | + | + | No change | | No change | + | No change | |
| AlAwlaqi et al. | 2017 | | | 1 day | 3-8 days | | | | |
| Gonzalo et al. | 2013 | + | | No change | No change | | | | |
| Raziel et al. | 2001 | | + | No change | | | | | |
| Mayorga Torres et al. | 2015 | | | No change | No change | | No change | No change | |
| Sobreiro et al. | 2005 | + | | < 5 days | No change | | | | |
| De Jonge et al. | 2004 | + | | No change | No change | No change | No change | No change | |
| Welliver et al. | 2016 | + | + | No change | No change | | No change | | |
| Carlsen et al. | 2004 | | | No change | No change | | | | |
| Levitas et al. | 2005 | | | 1 day | 0-2 days | | | | |
| Pasqualatto et al. | 2006 | No change | | 30-60 min | | | | | |
| Bahadur et al. | 2016 | | | 30-40 min | 30-40 min | | | | |
| Makkar et al. | 2001 | + | + | 1 day | 1 day | | | | |
| Pons et al. | 2013 | | | | | | + | | |
| Gosalvez et al. | 2011 | | | | | | + | | |
| Mayorga-Torres et al. | 2016 | | + | | | | No change | | |
| Marshburn et al. | 2014 | + | + | | | | | | |
| Wang et al. | 2007 | + | + | < 3 days | | | | | |
| Rivaroli et al. | 2009 | No change | | 5 days | No change | | | No change | |
| Jurema et al. | 2005 | | + | - | | | | | < 3 days (IUI) |
| Lehavi et al. | 2014 | + | | No change | No change | | | | |
| Marshburn et al. | 2010 | + | + | < 3 days | | | | | |
| Sanchez-Martin et al. | 2013 | + | | No change | | | + | | 1 day (ICSI) |
| Sunanda et al. | 2014 | + | + | | No change | | | + ** | |
| Sugiyam et al. | 2008 | + | | 30-60 min | | | | | 30-60 min (IVF) |
| Elzanaty et al. | 2005 | | | 4-5 days | < 6 days | | | | |
| Li et al. | 2003 | + | + | No change | No change | | | | |
| Zhang et al. | 2009 | + | | <3 days | No change | No change | | | |

4.10 Frequenza eiaculatoria

Una frequenza eiaculatoria maggiore potrebbe, secondo alcuni studi, migliorare alcuni parametri seminali.

In uno studio, dopo un periodo di astinenza di tre-quattro giorni, sono stati raccolti campioni di sperma, a giorni alterni, in uomini con una frequenza eiaculatoria di una volta al giorno. I soggetti non soffrivano di alterazioni di parametri seminali. Nonostante un abbassamento del volume, la concentrazione, la motilità e la morfologia non hanno subito cambiamenti nel corso dello studio nella prima settimana. Durante la seconda settimana è stato dimostrato, invece, un miglioramento significativo della vitalità. È stato inoltre notato un abbassamento non significativo dei livelli di ROS. (28)

Tabella 5: alterazioni di diversi parametri seminali in soggetti con una frequenza eiaculatoria di una volta al giorno nel corso di due settimane (28)

| | First | Day 2 | Day 4 | Day 6 | Day 9 | Day 11 | Day 13 |
|--|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Abstinence, days | 3-4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Volume, mL | 2.5 ± 0.2 | 1.8 ± 0.4* | 1.8 ± 0.3* | 1.6 ± 0.2* | 1.9 ± 0.3* | 1.7 ± 0.4 * | 1.9 ± 0.2* |
| Sperm concentration, 10 ⁶ /mL | 121.3 ± 35.5 | 80.3 ± 18.7 | 72.1 ± 18.1 | 66.1 ± 15.2 | 75.1 ± 22.6 | 80.4 ± 21.5 | 80.3 ± 19.2 |
| Total sperm count, ×10 ⁶ | 276.8 ± 70.5 | 134.4 ± 46.6* | 115.7 ± 27.8* | 88.7 ± 16.2* | 111.5 ± 23.6* | 109.9 ± 27.3* | 138.2 ± 31.4* |
| Total motility, % | 53.83 ± 4.7 | 55.50 ± 10.2 | 54.0 ± 7.8 | 52.9 ± 7.0 | 58.5 ± 5.7 | 58.7 ± 4.4 | 51.70 ± 5.5 |
| Progressive motility, % | 47.0 ± 5.5 | 51 ± 11.3 | 43.0 ± 8.6 | 45.2 ± 8.0 | 46.6 ± 6.4 | 50.5 ± 5.0 | 40.8 ± 3.3 |
| Vitality, % | 60.2 ± 3.1 | 61.7 ± 8.8 | 53.4 ± 7.4 | 65.5 ± 5.3 | 60.2 ± 4.7 | 59.5 ± 3.1 | 69.8 ± 5.6* |
| Morphology, normal forms % | 13.8 ± 8.2 | 12.1 ± 9.3 | 10.3 ± 7.6 | 11.5 ± 6.8 | 10.4 ± 9.4 | 12.9 ± 9.1 | 10.2 ± 6.9 |
| ROS production, MFI | 84.8 ± 9.3 | 58.5 ± 1.6 | 64.3 ± 3.8 | 79.7 ± 13.7 | 71.8 ± 18.6 | 63.3 ± 15.4 | 42.6 ± 6.1 |
| Mitochondrial Membrane Potential, % | 49.4 ± 8.1 | 49.8 ± 12.1 | 43.3 ± 9.2 | 49.5 ± 9.7 | 48.0 ± 6.0 | 47.7 ± 7.2 | 51.5 ± 8.6 |
| DNA fragmentation index, % | 25.6 ± 3.0 | 22.1 ± 4.3 | 24.0 ± 3.4 | 27.1 ± 3.5 | 24.7 ± 2.8 | 25.8 ± 4.6 | 23.9 ± 4.7 |
| Membrane integrity, % | 59.9 ± 7.4 | 51.2 ± 7.5 | 53.0 ± 5.9 | 63.0 ± 5.8 | 56.7 ± 6.9 | 58.7 ± 4.4 | 57.8 ± 6.8 |

MFI Mean Fluorescence Intensity, MMP Mitochondrial Membrane Potential, ROS reactive oxygen species
 *p < 0.05 vs. first analysis

Obiettivo dello studio è dimostrare che una frequenza sessuale ottimale (è considerata come frequenza ottimale una frequenza di due-tre rapporti sessuali alla settimana) incide significativamente su diversi parametri seminali, rispetto ad una frequenza sessuale non ottimale. Si considererà, in questo caso, come frequenza non ottimale, una frequenza minore di una volta a settimana.

In letteratura sono molti gli studi che valutano l'impatto dell'astinenza sul seme. Sono pochi, invece, gli studi che valutano l'impatto della frequenza sessuale sui vari parametri seminali. In particolare, questo studio si è soffermato sull'impatto della frequenza su parametri quali mobilità e motilità rapida progressiva.

Gli effetti della frequenza sulla fertilità sono ancora meno studiati se si considerano coorti di uomini con alterazioni della fertilità, come, ad esempio, i pazienti oligospermici. Lo studio si focalizza quindi, nel cercare una correlazione tra la frequenza sessuale e i parametri seminali in uomini oligospermici.

Attualmente, infatti, in questi pazienti, c'è l'indicazione di limitare la frequenza dei rapporti sessuali nelle settimane precedenti alla raccolta del campione di liquido seminale, se questo viene utilizzato per tecniche di procreazione medicalmente assistita. Questo viene suggerito nel tentativo di massimizzare il volume spermatico, non valutando, però, tutti gli altri parametri.

Una frequenza ottimale, infatti, potrebbe portare ad una minore esposizione degli spermatozoi ai radicali liberi dell'ossigeno (ROS) e ad una minore esposizione ad un'ambiente pro-infiammatorio. Una frequenza ottimale potrebbe quindi portare ad un miglioramento di parametri spermatici quali vitalità e motilità spermatica.

È tuttavia da considerare che una frequenza aumentata di rapporti sessuali potrebbe portare ad una riduzione di parametri quali il volume spermatico e la concentrazione spermatica.

Questo è uno studio retrospettivo condotto presso un centro pubblico di Procreazione Medicalmente Assistita di terzo livello.

I campioni di seme inclusi nello studio sono stati raccolti in un periodo di tempo di un anno, da settembre 2019 a settembre 2020.

I campioni sono stati raccolti sia per procedure di procreazione medicalmente assistita, sia a scopo diagnostico e sono stati inclusi tutti i campioni con una concentrazione spermatica pari o minore di 15 milioni/ml e con un'astinenza di 3-5 giorni.

I criteri di esclusione comprendevano campioni raccolti chirurgicamente e campioni raccolti per tecniche di preservazione della fertilità.

Sono stati registrati i dati demografici e clinici standard, nonché i parametri seminali.

Il potenziale ruolo predittivo della frequenza di eiaculazione, età, BMI, abitudine al fumo, precedente criptorchidismo, varicocele, giorni di astinenza sui parametri seminali è stato valutato mediante analisi univariata e poi multivariata per tutti i fattori significativi nei modelli univariati. Un p value < 0,05 è stato considerato significativo.

I campioni di sperma sono stati raccolti in contenitori sterili e sono stati tenuti a temperatura ambiente per trenta minuti per permettere la fluidificazione del seme. L'analisi dello sperma è stata eseguita secondo i criteri WHO. (24) Lo score dello sperma è stato espresso come gradi da "a" (motilità progressiva rapida) a "d" (non mobile) ed il tasso di motilità progressiva è stato calcolato come la percentuale di a+b.

Una prima valutazione del seme è stata eseguita al microscopio ottico a contrasto di fase per poi passare alla preparazione del seme.

Le tecniche di preparazione del seme utilizzate sono: lavaggio semplice, gradiente e swim up. La tecnica scelta nella preparazione è stata dettata dalle caratteristiche stesse dello sperma. Tecniche come lo swim up, infatti, sono state utilizzate per campioni di sperma con una concentrazione spermatica più alta, mentre la tecnica del gradiente ed il lavaggio semplice sono state riservate a campioni con una concentrazione spermatica più bassa.

La tecnica dei gradienti di discontinuità fornisce una migliore selezione di spermatozoi di alta qualità. La tecnica prevede una centrifugazione del seme su gradienti di densità costituiti da silice colloidale. La densità sarà del 40 % nello strato più alto e del 80% in quello più basso. La centrifuga prevede 200 g per un tempo di 10 minuti.

Per lo scopo dello studio, sono stati valutati e comparati i valori pre-capacitazione.

Le limitazioni dello studio sono dovute alle caratteristiche dello stesso: essendo uno studio retrospettivo sono stati utilizzati dati indiretti, pertanto più soggetti a distorsioni. Inoltre, la frequenza eiaculatoria è stata auto-riportata dagli stessi soggetti ed è una stima della media del numero di eiaculazioni settimanali.

I due gruppi (pazienti con frequenza ottimale e non ottimale) sono stati comparati ed i campioni sono risultati omogenei per tutti i fattori confondenti meno l'età media. L'età media, infatti, era più alta, in maniera statisticamente più significativa nel gruppo con una frequenza non ottimale.

I dati categorici sono stati comparati utilizzando il test del chi quadrato.

I dati continui sono stati espressi come variabili continue e comparati utilizzando il Test di Mann-Whitney.

Definiamo il Gruppo A come i pazienti con frequenza non ottimale (con una frequenza eiaculatoria minore di una volta a settimana), mentre il gruppo B come pazienti con una frequenza ottimale (tra le due e le tre eiaculazioni a settimana).

I pazienti con criptorchidismo e varicocele considerati sono pazienti ai quali, la condizione è stata curata in giovane età.

Di 738 uomini, 247 hanno riferito una frequenza eiaculatoria minore di una volta alla settimana, mentre 491 uomini hanno riferito una frequenza eiaculatoria settimanale di almeno due-tre volte alla settimana. Nessuno ha riferito una frequenza eiaculatoria di sette giorni a settimana.

Tabella 6: confronto dei parametri confondenti nei due gruppi.

| | Gruppo A (247) | Gruppo B (491) | p Value |
|--------------------------|----------------|----------------|---------|
| Età | 40,13 ± 6,77 | 37,04 ± 7,42 | < 0.01 |
| BMI | 25,66 ± 3,65 | 25,31 ± 3,44 | NS |
| Fumo | 55 % | 56,6 % | NS |
| Varicocele | 13,3 % | 16,3 % | NS |
| Criptorchidismo | 4,4 % | 4,3 % | NS |
| Giorni medi di astinenza | 0,91 ± 0,58 | 0,89 ± 0,46 | NS |

La differenza statisticamente significativa dell'età nei due gruppi è stata tenuta in conto nel calcolo del p value dei vari valori aggiustando la p value per l'età stessa.

La motilità spermatica totale (35.97±22.84% vs. 32.28±16.91%, p=0.02) e la motilità rapida di tipo A (5.62±6.9% vs. 4.20±6.1%, p=0.006) sono risultate significativamente maggiori nel gruppo con una frequenza eiaculatoria ottimale.

La frequenza eiaculatoria è rimasta predittiva della motilità totale (p=0.04) e della motilità rapidamente progressiva A (p=0.03) in un modello di regressione lineare multivariato con età e concentrazione di spermatozoi.

Il volume dello sperma (2.92±1.56 ml vs. 2.91±1.54 ml, p=NS) e la concentrazione spermatica (5.74±5.05 mil/ml vs. 6.05±4.78 mil/ml, p=NS) non differivano significativamente a seconda della frequenza eiaculatoria dichiarata.

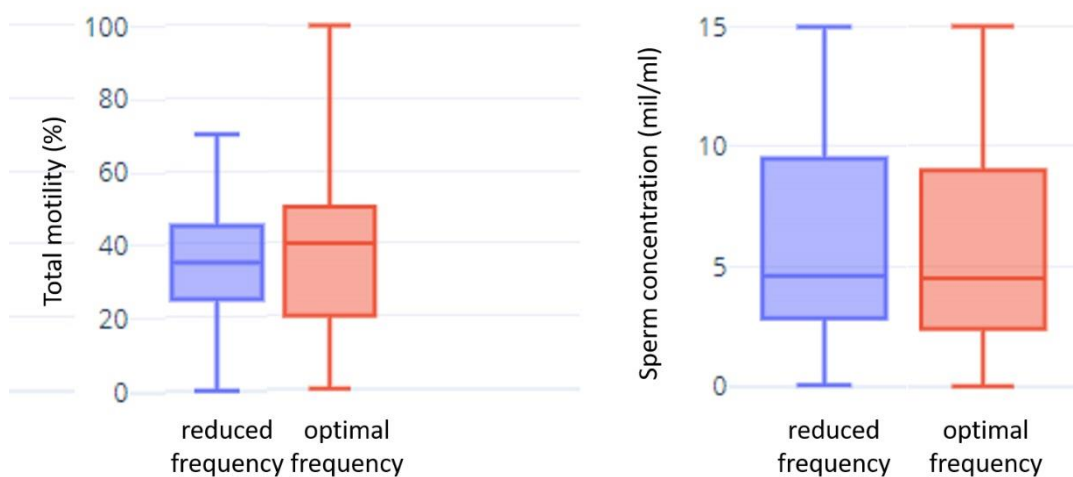
Tabella 7:

| | Gruppo A | Gruppo B | p Value | Adjusted p Value |
|---------------------------|---------------|---------------|---------|------------------|
| Volume | 2,91 ± 1,54 | 2,92 ± 1,56 | NS | NS* |
| Concentrazione | 6,05 ± 4,78 | 5,74 ± 5,05 | NS | NS* |
| Motilità totale (%) | 32,28 ± 16,91 | 35,97 ± 22,84 | 0,02 | 0,04* |
| Motilità rapida di tipo A | 4,2 ± 6,1 | 5,62 ± 6,9 | 0,006 | 0,03** |

* Adjusted p value per età

** Adjusted p value per età e concentrazione

Tabella 8: differenza nel gruppo A e nel Gruppo B di motilità totale e concentrazione spermatica.



Nel nostro campione, quindi, una frequenza di due-tre eiaculazioni a settimana durante i tre mesi precedenti la raccolta del seme, ottimizza significativamente la motilità spermatica, senza alcuna riduzione della concentrazione spermatica e del volume spermatico.

I risultati di questo studio hanno dimostrato come una frequenza eiaculatoria ottimale di due-tre volte a settimana migliori la qualità dello sperma rispetto ad una frequenza non ottimale (minore di una volta a settimana).

In particolare, è stato osservato un miglioramento della qualità spermatica in pazienti affetti da oligospermia.

Negli ultimi anni è stato ampiamente dimostrato il ruolo benefico di un'astinenza ridotta sui parametri seminali ma ancora poco si sapeva del ruolo della frequenza sugli stessi.

Lo studio infatti ha dimostrato un miglioramento statisticamente significativo della mobilità e della motilità rapida progressiva. Inoltre, all'aumentare della frequenza non è stato rilevato una diminuzione statisticamente significativa di parametri quali volume e concentrazione spermatica.

Gli studi su come una diminuita motilità spermatica incidano negativamente sui tassi di successo di tecniche di procreazione medicalmente assistita sono molteplici, soprattutto se vengono prese in considerazione tecniche di primo livello come l'inseminazione intrauterina. (29) (30)

I risultati dello studio hanno diverse ripercussioni nell'ambito della procreazione. Innanzitutto, deve essere considerato come parametro nella valutazione della coppia, oltre all'astinenza anche la frequenza eiaculatoria. Infatti, una frequenza eiaculatoria ottimale potrebbe portare ad un migliore outcome sia di tecniche di procreazione medicalmente assistita di primo e secondo livello, sia ad un maggior tasso di successo di procreazione spontanea.

Questo si applica maggiormente alla popolazione di uomini oligospermatici. Infatti, non solo il miglioramento dei parametri seminali è migliore in questa popolazione di uomini ma, a questi, è attualmente consigliata un'astinenza più lunga e di conseguenza una ridotta frequenza eiaculatoria, in modo da ottimizzare parametri come volume e concentrazione. Lo studio dimostra come non solo questo sia controproducente per parametri quali mobilità e motilità spontanea progressiva ma non ottiene nemmeno l'obiettivo voluto in

quanto parametri come volume e concentrazione non hanno subito mutazioni statisticamente significative nello studio.

1. Infertilità - ISS [Internet]. [citato 29 aprile 2021]. Disponibile su: <https://www.iss.it/infertilit%C3%A0-e-pma>
2. C_17_pubblicazioni_3023_allegato.pdf [Internet]. [citato 29 aprile 2021]. Disponibile su: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_3023_allegato.pdf
3. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.* dicembre 2018;62:2–10.
4. Collins JA, Van Steirteghem A. Overall prognosis with current treatment of infertility. *Hum Reprod Update.* agosto 2004;10(4):309–16.
5. Jack W. McAninch, Tom F. Lue. Smith and Tanagho's General Urology. 18^a ed.
6. Leaver RB. Male infertility: an overview of causes and treatment options. *Br J Nurs Mark Allen Publ.* 13 ottobre 2016;25(18):S35–40.
7. Brandt JS, Cruz Ithier MA, Rosen T, Ashkinadze E. Advanced paternal age, infertility, and reproductive risks: A review of the literature. *Prenat Diagn.* gennaio 2019;39(2):81–7.
8. Sharma R, Agarwal A, Rohra VK, Assidi M, Abu-Elmagd M, Turki RF. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 19 aprile 2015;13:35.
9. Sansone A, Di Dato C, de Angelis C, Menafra D, Pozza C, Pivonello R, et al. Smoke, alcohol and drug addiction and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 15 gennaio 2018;16(1):3.
10. Kahn BE, Brannigan RE. Obesity and male infertility. *Curr Opin Urol.* settembre 2017;27(5):441–5.
11. Huang C, Zhu HL, Xu KR, Wang SY, Fan LQ, Zhu WB. Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis. *Andrology.* settembre 2015;3(5):809–16.
12. Ahmadi MH, Mirsalehian A, Sadighi Gilani MA, Bahador A, Afraz K. Association of asymptomatic Chlamydia trachomatis infection with male infertility and the effect of antibiotic therapy in improvement of semen quality in infected infertile men. *Andrologia.* 1 gennaio 2018;

13. Bräuner EV, Nordkap L, Priskorn L, Hansen ÅM, Bang AK, Holmboe SA, et al. Psychological stress, stressful life events, male factor infertility, and testicular function: a cross-sectional study. *Fertil Steril.* aprile 2020;113(4):865–75.
14. Choy JT, Eisenberg ML. Male infertility as a window to health. *Fertil Steril.* ottobre 2018;110(5):810–4.
15. Wolf-Bernhard Schill, Frank H. Comhaire, Timothy B. Hargreave. *Andrologia clinica.*
16. Abdelhamid MHM, Walschaerts M, Ahmad G, Mieusset R, Bujan L, Hamdi S. Mild experimental increase in testis and epididymis temperature in men: effects on sperm morphology according to spermatogenesis stages. *Transl Androl Urol.* dicembre 2019;8(6):651–65.
17. John Reynard, Simon Brewster, Suzanne Biers. *Oxford Handbook of Urology.* 3^a ed.
18. Alan W. Partin, Craig A. Peters, Louis R. Kavoussi, Roger R. Dmochowski, Alan J. Wein. *CAMPBELL-WALSH Urology.* 10^a ed.
19. PMA di I e II livello [Internet]. [citato 11 maggio 2021]. Disponibile su: <https://www.policlinicoudine.it/policlinico/pma-di-i-e-ii-livello>
20. D. KEITH EDMONDS. *Dewhurst's Textbook of Obstetrics & Gynaecology.* 7^a ed.
21. L 40/2004 [Internet]. [citato 11 maggio 2021]. Disponibile su: <https://www.camera.it/parlam/leggi/04040l.htm>
22. 00000004.pdf [Internet]. [citato 11 maggio 2021]. Disponibile su: https://www.camera.it/_dati/leg18/lavori/documentiparlamentari/indiceetesti/142/001/00000004.pdf
23. Muratori M, Tarozzi N, Carpentiero F, Danti S, Perrone FM, Cambi M, et al. Sperm selection with density gradient centrifugation and swim up: effect on DNA fragmentation in viable spermatozoa. *Sci Rep.* 16 maggio 2019;9(1):7492.
24. Dr Trevor G Cooper. *Manuale di laboratorio WHO per l'esame del liquido seminale.* Quinta.

25. Hanson BM, Aston KI, Jenkins TG, Carrell DT, Hotaling JM. The impact of ejaculatory abstinence on semen analysis parameters: a systematic review. *J Assist Reprod Genet.* febbraio 2018;35(2):213–20.
26. Ayad BM, Horst GV der, Plessis SSD. Revisiting The Relationship between The Ejaculatory Abstinence Period and Semen Characteristics. *Int J Fertil Steril.* gennaio 2018;11(4):238–46.
27. Borges E, Braga DP a. F, Zanetti BF, Iaconelli A, Setti AS. Revisiting the impact of ejaculatory abstinence on semen quality and intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Andrology.* marzo 2019;7(2):213–9.
28. Mayorga-Torres BJM, Camargo M, Agarwal A, du Plessis SS, Cadavid AP, Cardona Maya WD. Influence of ejaculation frequency on seminal parameters. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 21 maggio 2015;13:47.
29. Lee J, Hwang S, Lee J, Yoo J, Jang D, Hwang K, et al. Effect of insemination timing on pregnancy outcome in association with female age, sperm motility, sperm morphology and sperm concentration in intrauterine insemination. *J Obstet Gynaecol Res.* giugno 2018;44(6):1100–6.
30. Pusch HH. The importance of sperm motility for the fertilization of human oocytes in vivo and in vitro. *Andrologia.* ottobre 1987;19(5):514–27.