

## RIASSUNTO

In 59 gravide la determinazione dei livelli plasmatici di alfa-fetoproteina indica che è possibile con tale metodo stabilire la prognosi della minaccia di aborto, valutare lo stato di trofismo del feto e prevedere l'imminente morte intrauterina.

## BIBLIOGRAFIA

1. Spiiro R. G.: *J. Biol. Chem.* 235, 2860, 1960. - 2. Deutsch H. F.: *J. Biol. Chem.* 208, 669, 1954. - 3. Spiiro R. G.: *J. Biol. Chem.* 238, 644, 1963. - 4. Spiiro R. G., Spiiro M. J.: *J. Biol. Chem.* 237, 1507, 1962. - 5. Pedersen K. O.: *J. Phys. Colloid Chem.* 51, 164, 1947. - 6. Rouslahti E., Seppälä M.: *Int. J. Cancer* 7, 218, 1971. - 7. Nishi S.: *Cancer Res.* 30, 2507, 1970. - 8. Gitlin D., Boesman M.: *J. Clin. Invest.* 45, 1826, 1966. - 9. Oshiro Y., Eylar E. M.: *Arch. Biochem. Biophys.* 127, 476, 1968. - 10. Rouslahti E.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 27, Suppl. 116, 57, 1971. - 11. Hirai H., Nishi S.: *Prot. Biol. Fluids* - Proc. 18th Am. Coll. Bruges Amsterdam 1970. - 12. Masopust J., Tomasova H.: *Ibidem.* - 13. Seppälä M., Rouslahti E.: *Am. J. Obst. Gynec.* 112, 208, 1972. - 14. Purves L. R., Geddes E. W.: *Lancet* 1, 47, 1972. - 15. Rouslahti E., Seppälä M.: *Int. J. Cancer* 8, 374, 1972. - 16. Seppälä M., Rouslahti E.: *Lancet* 1, 375, 1972. - 17. Seppälä M., Rouslahti E.: *Am. J. Obst. Gynec.* 115, 48, 1973. - 18. Gitlin D., Boesman M.: *J. Clin. Invest.* 46, 1010, 1967. - 19. Bull. W. H. O.: 43, 309, 1970. - 20. Gitlin D., Boesman M.: *J. Clin. Invest.* 45, 1829, 1966. - 21. Gitlin D., Boesman M.: *Comp. Biochem. Physiol.* 21, 327, 1967. - 22. Jacob F., Monod J.: *J. Mol. Biol.* 3, 318, 1961. - 23. Ishiguro T., Nishimura T.: *Am. J. Obst. Gynec.* 116, 27, 1973. - 24. Desole E., Dichiarà F., Franzolini F., Vernotti B.: *Atti Simposio « La Biochimica in Ostetricia » Treviso 1974.*

## Significato e valutazione critica dei vari parametri dell'esame seminale e loro utilità nella diagnostica della sterilità maschile

A. ROS, G. DOLCETTA e V. AZZINI

## INTRODUZIONE

L'importanza dell'esame seminale nello studio della coppia sterile deriva dal fatto che la percentuale delle cause relative ai partners maschili si aggira attorno al 35-40%, arrivando per qualche AA. addirittura al 60% (1).

Secondo la nostra esperienza riteniamo essenziale eseguire una visita andrologica contemporaneamente all'esame seminale per non trovarci di fronte ad uno spermioγραμμα gravemente alterato senza avere notato, magari, una anomalia facilmente obiettivabile dell'apparato genitale del paziente, in grado di spiegare il corrispondente quadro seminale che, privo di tale rapido e semplice esame obiettivo, può orientarci in una direzione errata.

I campioni del seme devono essere valutati da una persona che abbia l'espe-

<sup>2a</sup> Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Padova (Direttore prof. A. Onnis).

rienza sufficiente in materia; è necessario poi considerare almeno 2 campioni a distanza di una settimana, prelevati possibilmente con le stesse modalità e dopo un egual numero di giorni di astinenza, data la grande variabilità dei singoli parametri in due diverse eiaculazioni.

Il contributo clinico offerto da un corretto esame seminale è notevole, in quanto non ci informa solo della funzionalità gonadica, ma anche, come scrive Hellinga (2), della funzionalità in toto dell'apparato genitale maschile. Infatti dallo studio delle caratteristiche fisiche e macroscopiche e dalla visione microscopica dello sperma, come anche dalle determinazioni biochimiche del plasma seminale, si possono avere notizie inerenti alla funzione spermatogenetica ed endocrina del testicolo oltre che all'attività funzionale delle ghiandole annesse e delle vie spermatiche.

### RACCOLTA DEL CAMPIONE

In tema di esame seminale, un elemento molto importante, da cui dipendono i risultati dei vari parametri studiati, è rappresentato dalla modalità di prelievo dello sperma e di trasporto al Centro di analisi. È necessario fare ciò garantendo la migliore conservazione del seme ed usando sempre le stesse norme. È importante dare spiegazione al paziente sul perché di alcuni accorgimenti che deve adottare, se si desidera essere sicuri che vengano messi in pratica; è inoltre nostra impressione sia sempre vantaggioso che il prelievo avvenga, nel limite del possibile, a domicilio per permettere una miglior disposizione psicologica del paziente che si traduce in una eiaculazione più normale, la più simile a quella abituale nell'orgasmo completo nel rapporto coniugale (2<sup>a</sup>).

L'eiaculato ottenuto con la masturbazione o dopo coito interrotto va raccolto in un recipiente di vetro neutro o di materiale plastico inerte, sterile, che va consegnato all'esaminatore entro un'ora, cercando di non sottoporlo a sbalzi di temperatura. Alcuni AA. usano a questo proposito dei contenitori thermos per il trasporto del seme.

Altri metodi di raccolta sono da sconsigliare tipo quello per coito condomato, massaggio prostatico, spremitura dell'eiaculato residuo dall'uretra, reflusso del contenuto vaginale dopo rapporto sessuale, raccolta in vagina preparata (3). Alcuni di questi metodi sono il risultato delle esigenze di pazienti con ben determinati principi morali sul sesso; quest'ultimo della raccolta in vagina preparata con sostanze antisettiche ed alcalinizzanti sarebbe un buon metodo ma non molto adottato per motivi pratici.

Per quanto riguarda il numero di giorni di astinenza da adottare, noi richiediamo dai 3 ai 5 giorni.

Su questo argomento non c'è una assoluta unanimità: poiché l'uomo normale possiede una buona riserva, raggiungendo il livello ottimale dei parametri dopo 48-72 ore di astinenza, per alcuni sono necessari più di 3 giorni (4). Inoltre eiaculazioni successive con un intervallo inferiore di tre giorni portano alla diminuzione del volume e della densità (7). Secondo MacLeod, Gold e MacLane (5), la capacità di concepimento aumenta con la frequenza delle copule ma la qualità del seme non è migliore con l'aumentare dell'astinenza in quanto la quantità e la motilità diminuiscono. È inoltre utile raccomandare al paziente la massima attenzione nel raccogliere la totalità dell'eiaculato, specialmente la prima parte essendo questa la più ricca di spermatozoi, sia come concentrazione che come qualità; è dimostrato infatti che il primo terzo dell'eiaculato contiene

i 3/4 del numero totale degli spermatozoi. Anche MacLeod e Hotchkiss, facendo eiaculare 30 soggetti frazionatamente in due recipienti, hanno dimostrato che la prima parte è la piú ricca in spermatozoi (6).

### VALUTAZIONE DELL'ESAME SEMINALE

L'aspetto che fundamentalmente riguarda l'esame dell'eiaculato è quello di arrivare alla discriminazione dei valori minimo-normali ancora sicuramente compatibili con la fertilità maschile. Il problema infatti è sempre stato quello di stabilire a quali limiti l'uomo perde le sue capacità procreative. Ma è piú giusto pensare che il grado adeguato di fertilità dell'uomo deve essere stabilito sulla base della fertilità della partner; sebbene sia essenziale stabilire degli standards di fertilità, ogni marito deve essere valutato in base allo stato della moglie. Anche per questo è stato, ad un certo momento, necessario fare una revisione critica di tutte le teorie a proposito, sia a livello sperimentale, clinico che statistico.

Eliasson (7) ridimensiona un po' tutte le cifre definendo fertile il seme di un uomo ottenuto entro tre mesi dal concepimento della moglie ed aggiunge che un soggetto deve considerarsi eventualmente « non fertile » finché non si è dimostrato che è « sterile ».

### METODO DI ESAME DEL SEME

Le varie tappe dell'esame seminale consistono nell'esame fisico dello sperma in cui si prende in considerazione il volume, la viscosità, il tempo di omogeneizzazione, il colore, l'opacità, il pH; nelle indagini microscopiche consistenti nella concentrazione spermatozoica e nelle caratteristiche dinamiche e morfologiche, e le determinazioni biochimiche del plasma seminale oltre all'indagine sull'agglutinazione spermatica, espressione di reazione immunitaria.

*Il volume:* dopo un periodo di astinenza da 3 a 5 giorni il volume dell'eiaculato è compreso, nei soggetti normali da noi esaminati, fra 2 e 5 ml. Volumi inferiori ad 1 ml o superiori a 5 ml sono stati molto spesso osservati in casi patologici.

Prescindendo dal significato endocrino di questo parametro che esprime indirettamente la funzione androgena del soggetto, tenendo conto della variabilità che si può avere in relazione al periodo di astinenza ed alla disposizione psichica del paziente al momento del prelievo, si può parlare con certezza di ipoposia al di sotto di 0,5-1 ml; e questo parametro va valutato poi in rapporto alla concentrazione degli spermatozoi per dare alla posia stessa un significato piú concreto. Infatti, in pratica, piccole quantità di eiaculato possono svolgere una azione fecondante se vengono regolarmente depositate sulla portio e protette dal muco cervicale.

A questo riguardo alcuni AA. insistono sull'importanza della sede del tappo di muco cervicale che potrebbe diversamente influenzare il massivo ingresso degli spermatozoi nel canale cervicale.

Belonoschkin (8-9) descrive come alle volte questo tappo si trovi nella profondità del canale cervicale, altre volte protruda e discenda in vagina contribuendo in tal modo a tamponare l'acidità vaginale che, come si sa, non favorisce certamente la vitalità degli spermatozoi.

Nei casi di ipoposia grave, con motilità nella norma, si può pensare all'arricchimento del seme e successiva inseminazione intraconiugale.

*La viscosità e l'omogeneizzazione:* Subito dopo l'eiaculazione lo sperma forma rapidamente un coagulo che poi si liquefa nei 5-20 min. seguenti, a temperatura ambiente. Finché l'omogeneizzazione non è completamente avvenuta gli spermatozoi non sono completamente mobili <sup>(10)</sup>. L'aumento della viscosità dello sperma spesso compare senza una ben precisa causa e nell'esecuzione dell'esame può portare a grandi errori di interpretazione degli altri parametri, soprattutto della motilità e della concentrazione.

Nei casi da noi osservati, un aumento della viscosità dello sperma, che si traduce nella mancanza di una completa fluidificazione, è spesso associata ad un quadro generico di flogosi in prevalenza prostatiche con presenza di un elevato numero di leucociti nel seme e talvolta di batteri.

*Il colore:* L'aspetto dello sperma appena eiaculato è di un colore che va dal bianco lattescente al giallognolo. Questa tonalità si modifica verso il giallo con il prevalere della secrezione delle vescicole seminali, verso il bianco se prevale la secrezione prostatica.

Il colore dello sperma normale è infatti il risultato delle varie componenti secretive nella proporzione del 60% a carico delle vescicole seminali, del 30% per la secrezione prostatica e del 5-10% per quanto riguarda il secreto dell'epididimo, dell'ampolla del deferente, delle ghiandole uretrali e bulbo-uretrali. La tonalità di cui sopra può caricarsi progressivamente verso il marron o rossastro per la presenza più o meno marcata di eritrociti, indirizzando verso una diagnosi di emospermia, già all'esame macroscopico.

*L'opacità:* Il seme è opalescente per la presenza di una sospensione di particelle microscopiche, oltre alle cellule germinali e delle vie spermatiche. Poco può dire se non quando trattasi di sperma di pazienti azoospermici o gravemente oligospermici nei quali essa appare in realtà diminuita, risultandone un aspetto acquoso.

*La reazione del mezzo:* Il pH può essere misurato sullo sperma fresco con una carta indicatrice speciale Merck.

Secondo Mann i valori normali vanno da 7,05 a 7,50 <sup>(11)</sup> e per Schuermann da 7,20 a 7,80 <sup>(12)</sup> e nel corso di 8 ore successive aumenta fino al valore di 8.

Noi non abbiamo notato differenze significative, al di fuori di questi valori normali, in casi di azoospermia ed oligospermia grave. Piuttosto ci sembra di poter affermare che alterazioni del pH sono associate a processi infiammatori delle ghiandole accessorie e generalmente della prostata il cui secreto ha un pH che oscilla tra 6,50 e 6,80 e delle vescicole seminali tra 7,15 e 7,70, valori che corrispondono, in linea di massima, a quanto dice anche Raboch <sup>(13)</sup>.

*La concentrazione degli spermatozoi:* Questo importante parametro dell'esame del seme esprime il numero di spermatozoi per ml che è più significativo del numero totale degli spermatozoi dell'intero eiaculato.

Essendo una piccola quantità del seme posto in vagina che si deposita sul collo dell'utero, la concentrazione degli spermatozoi è molto importante: Chang ha dimostrato sui conigli che il numero di spermatozoi che penetrano nella cavità uterina è strettamente dipendente dalla loro concentrazione nel seme <sup>(14)</sup>. Molti AA. hanno studiato questo problema, ponendo limiti, diversi tra loro, al di sotto dei quali si parla di oligospermia esprimendo un giudizio diagnostico e prognostico sfavorevole. MacLeod e Gold hanno sottoposto i vari valori limite ad analisi critica affermando non accettabile il numero di 60.000.000/ml prima considerato come limite minimo di normalità nella conta degli spermatozoi <sup>(15)</sup>. Molti AA. concordano con MacLeod abbassando questo limite minimo <sup>(16)</sup> e

notando gravidanze dopo inseminazione artificiale con seme di oligospermici (17).

Non bisogna dimenticare poi la grande fluttuazione dei valori della concentrazione spermatozoica normale in tutti gli uomini che è in rapporto all'intensità dell'attività sessuale ed al periodo di astinenza (18): questo fenomeno è più frequente negli individui infertili, come ha osservato Zondek (19).

Schirren considera come valore minimo al di sotto del quale si può parlare di oligospermia i 40.000.000/ml (20) ed è in accordo con il pensiero di Schoysmann (21) il quale afferma però che tale parametro ha una importanza subordinata alla motilità ed alla morfologia.

Questo limite inferiore di concentrazione può attualmente essere abbassato a 20.000.000/ml, restando compatibile con la fertilità (3): scendendo al di sotto le possibilità di gravidanza diminuiscono e noi pensiamo sia lecito parlare di oligospermia grave sotto i 5-10.000.000/ml, di medio grado tra i 10-20.000.000/ml, ricordando che questo parametro non può da solo giudicare il grado di fertilità di un campione per quanto generalmente la oligospermia si associ spesso alla asteno e teratospermia. Un accorgimento che ci pare ovvio ma fondamentale da ricordare è quello di eseguire la conta dopo immobilizzazione degli spermatozoi con una soluzione formata da formalina all'1% e bicarbonato di sodio al 5% in parti uguali; il seme viene diluito in tale soluzione al 10%.

*La motilità:* È noto che nell'epididimo gli spermatozoi non sono ancora dotati di movimenti attivi ed arrivano alle ampolle dei deferenti per peristalsi del tratto genitale (22). Una volta in movimento, dal momento che sono immersi nel liquido seminale, sono muniti di movimenti propri per mezzo della coda con un meccanismo di cui poco si conosce; si dà per certo che un'onda percorra il flagello con un'ampiezza e frequenza costanti. Il movimento che ne risulta deve essere rettilineo e progressivo allo scopo di raggiungere l'uovo e penetrarvi (23).

La presenza dei movimenti attivi dello spermatozoo è stata dimostrata da Kristeller (24) ed è confermata da lavori di Seeligman (25) e Strassman (26).

Subito dopo l'eiaculazione gli spermatozoi sono poco mobili; una volta avvenuta la liquefazione essi acquistano la loro massima motilità (27), utilizzando la energia prodotta dalla glicolisi anaerobica di cui sono capaci scindendo fruttosio, glucosio o mannosio con produzione di acido lattico e ricevendo energia dai molto attivi processi glicolitici del plasma seminale (28).

Secondo altri AA. la motilità degli spermatozoi deriva da meccanismi biochimici simili alla contrazione muscolare, avendo notato l'importanza della presenza degli ioni calcio in ben determinate concentrazioni (29).

In ogni caso la maggioranza degli AA. stabilisce che un seme è fertile, da questo punto di vista, se almeno il 60% degli spermatozoi è dotato di movimenti rettilinei e progressivi dopo 1-2 ore dall'emissione (20-21) ed il 50% dopo circa 4 ore (30). La motilità nelle ore successive, che è indice di sopravvivenza, ha ovviamente la sua importanza ma oggi è pratica comune, ed anche del Centro della nostra Clinica, dare maggior rilievo alla motilità della seconda ora.

In effetti la sopravvivenza andrebbe studiata, nello sperma, in assenza di contaminazione batterica, con aggiunta di antibiotici (31), mantenendo il campione a temperatura costante di 37 °C dal momento che il calore accelera i movimenti dello spermatozoo, diminuendo il tempo di sopravvivenza (3). È poi dimostrato negli animali che gli spermatozoi raggiungono l'uovo con velocità superiore a quanto si potrebbe dedurre dalla loro motilità (32) e quindi è la motilità delle prime ore dopo l'eiaculazione che deve essere valida e che deve mantenersi tale nella cavità uterina. Alcuni AA. hanno riscontrato spermatozoi nella tuba entro

30' dal coito (33). Oltre agli spermatozoi, giungono nelle tube anche particelle estranee: ciò è stato dimostrato da Hartman mediante l'uso di sostanze coloranti poste in vagina (32); ciò significa che altri fattori influenzano la risalita degli spermatozoi, oltre i loro stessi movimenti attivi.

Di questa opinione, che appoggia la teoria del moto passivo degli spermatozoi, è pure sostenitore Cary (34) assieme ad altri.

È bene, nell'accertamento della motilità, esprimerla in percentuale su almeno 200 spermatozoi, data la relatività del metodo per ovvi motivi, soprattutto in eiaculati molto concentrati.

Botella e Shettles valutano la velocità degli spermi in vitro giungendo alla misurazione della progressione spermatica lineare che è espressione della capacità dinamica totale dello sperma. Tale metodo non è stato adottato di routine nella nostra Clinica.

Janick e Coll. (35) utilizzano la registrazione fotografica o cinematografica dei movimenti degli spermatozoi.

Noi non riteniamo utile eseguire accertamenti sulla motilità nelle ore successive alla seconda, come ancora molti laboratori fanno, sia per le considerazioni sopra dette sia perché con il passare del tempo troppi sono i parametri che possono variare in modo diverso anche nel seme normale (velocità di utilizzazione del fruttosio, variazione del pH, etc.) che possono portare ad una constatazione di una motilità quasi assente a distanza di 6 ore o più. Questa valutazione non è per niente vicina alla situazione fisiologica del seme nelle vie genitali femminili dove, per quanto ne sappiamo fino ad oggi, la motilità constatabile in vitro ha importanza in quanto ci garantisce la possibilità di penetrazione del seme nel muco cervicale, dopo di che fino ad oggi ben poco è conosciuto.

Nei casi in cui all'esame a fresco si constati che molte forme sono immobili, è necessario differenziare tra astenospermia e necrospermia, con l'uso di colorazione vitale che noi eseguiamo con eosina y al 5% in soluzione fisiologica clorurata.

*L'aspetto morfologico dell'esame seminale:* Nell'esame morfologico del seme è necessario poter valutare la varietà delle anomalie degli spermatozoi ma soprattutto la loro percentuale nelle varie combinazioni presenti nei soggetti esaminati, e quindi la teratospermia si definisce in funzione di una presenza patologica di certe forme anormali. Sfortunatamente è molto difficile fissare una soglia percentuale di teratospermia per la ragione che la ricerca dell'influenza del solo parametro morfologico è resa difficile dal fatto che generalmente un aumento del tasso delle anomalie si accompagna alla oligospermia ed alla astenospermia che, per parte loro, influiscono molto sulla fecondità del seme.

Premesso che le forme anormali più frequenti sono quelle della testa e del collo e che ne esistono alcune di rare come le code triple, possiamo affermare, in base a statistiche recenti (21) ed alla nostra diretta esperienza, che al di sotto del 30% di forme anormali un seme è da considerarsi normale mentre al di sopra del 50% di forme anomale è da considerarsi anormale; nei casi intermedi un giudizio non può essere dato al di fuori degli altri elementi, e in ogni caso, con molta prudenza.

Per quanto riguarda il tipo di morfologia, i criteri ed i principi di classificazione delle anomalie degli spermatozoi sono estremamente variabili da un Autore all'altro (36-37). Per citare alcune particolarità morfologiche di prevalente osservazione, si può far cenno al fatto che tutti gli AA. sono d'accordo nell'assegnare alle anomalie della testa un significato preminente (38). È opinione co-

mune che la forma conica, presente in alta percentuale, sia espressione di stimolazione tossica del testicolo, ed è stata riscontrata in individui trattati con antispermigeni (<sup>39</sup>). Le code attorcigliate presenti in alto numero sono state spesso viste in sperma infecondo (<sup>39</sup>). La forma tapering o a testa allungata fu descritta nel 1965 da MacLeod (<sup>40</sup>) come tipica nei casi di varicocele assieme ad anomalie del collo, spesso associate a tali teste, con notevole aumento anche delle forme immature; a proposito del varicocele, Mancini (<sup>41</sup>) afferma di non aver sempre riscontrato questa particolare dismorfia ed alcuni casi venuti alla nostra osservazione, presentavano una notevole incidenza di anomalie della testa senza peraltro essere unicamente di quel tipo.

Molti ricercatori affermano esservi una stretta relazione tra la qualità della morfologia del seme e la probabilità di fecondazione; del resto il post-coital-test ci dà una conferma in più che nel muco cervicale si ritrovano solo spermatozoi morfologicamente normali essendo ben nota la sua azione di filtro (<sup>42</sup>).

Ma in definitiva è sempre stata scarsa la correlazione clinica con le singole particolarità morfologiche di una determinata parte dello spermatozoo anomalo: e ciò sia per la soggettività di giudizio delle varie dismorfie sia per l'impossibilità di stabilire una graduale e proporzionale importanza topografica delle malformazioni, al microscopio ottico.

Per diminuire quindi le possibilità di errore e rendere più agevole e meno soggettiva la valutazione delle dismorfie, a noi sembra importante che almeno vengano distinte 4 classi di aspetti morfologici: 1° - le forme normali, in cui comprendiamo le forme tipiche e le variazioni fisiologiche; 2° - le forme immature; 3° - le forme ipermature; 4° - quelle anormali o degenerative, distinte a seconda della topografia (testa, collo, corpo, coda); a proposito di questo quarto gruppo, una successiva distinzione, a seconda della peculiarità dell'alterazione, potrà essere fatta per un motivo statistico di studio e per poterci magari riferire a determinate sindromi citocliniche.

Tale esame morfologico è bene sia eseguito studiando una goccia di sperma a fresco con microscopio in contrasto di fase che meglio di quello ottico comune ci permette di vedere distintamente la morfologia potendo così rapportare una particolare forma alla sua motilità, ma anche su strisci colorati con il metodo di Papanicolaou per poter individuare più obiettivamente il tipo di anomalia ed anche per poter valutare eventuali differenze in diversi eiaculati di uno stesso soggetto a distanza di tempo senza doversi basare solo su risposte date in precedenza magari da esaminatori diversi.

Di fronte a casi di teratospermia grave, con oltre il 50% quindi di forme anomale nell'eiaculato, associato o no ad oligo ed astenospermia, si deve sempre pensare ad una alterazione della spermatogenesi come possibile causa di subfertilità; necessarie saranno le indagini endocrinologiche ed istologiche ma si dovrà pure sospettare che sia le forme patologiche soprattutto della testa sia quelle che ci sembrano normali e che magari sono normalmente mobili abbiano un corredo cromosomico alterato (<sup>43</sup>): pertanto in questi casi è consigliabile eseguire la mappa cromosomica non solo dai leucociti circolanti ma anche la mappa dei cromosomi meiotici dal tessuto testicolare (<sup>44</sup>).

Desideriamo ancora ricordare che non si può dimenticare di ricercare nello sperma la presenza, oltre che delle cellule immature delle varie fasi della spermatogenesi, quella dei leucociti che, come dice Pomerol (<sup>45</sup>), se sono in numero superiore a 200.000/ml è indicativa di flogosi uretrale, prostatica, delle vescicole seminali o delle ghiandole del Cowper; importante è fare urinare il paziente

prima di ottenere il seme onde evitare l'inquinamento con i germi presenti nell'uretra anteriore.

Ed infine, per eliminare un po' delle pur sempre alte cause di errore di valutazione di questo in particolare ed anche degli altri parametri, è bene che i ripetuti esami seminali di uno stesso paziente vengano eseguiti sempre nello stesso laboratorio e meglio ancora dallo stesso esaminatore, con i medesimi criteri, dopo un ugual periodo di astinenza, per poter dare un giudizio diagnostico più obiettivo ed avere una visione più reale dell'efficacia terapeutica nelle varie dismorfie.

*Indagini funzionali nel plasma seminale:* Se l'indagine microscopica delle principali caratteristiche spermatozoarie, soprattutto motilità, morfologia e numero, rappresenta il principale contributo diagnostico di un buon esame seminale, non dobbiamo tuttavia dimenticare il contributo che alcune determinazioni biochimiche del liquido seminale ci possono fornire. Per molto tempo anzi, ed anche oggi per molti AA., le fondamentali caratteristiche biochimiche del plasma seminale vengono indagate al duplice scopo di trovare sia la dipendenza ormonale di alcune specifiche sostanze, sia la possibilità di risalire al funzionamento delle ghiandole responsabili della loro secrezione. Numerosi studi sono stati quindi compiuti per mettere in evidenza il ruolo funzionale ed energetico di numerose sostanze del plasma seminale (<sup>46-47</sup>).

Come esempio fondamentale di questi dosaggi biochimici possiamo citare quello della determinazione del fruttosio od il corrispondente test dell'attività fruttolitica, usato sia come test spia della situazione androgena del paziente, sia come componente essenziale della motilità dello spermatozoo. Sembra che il contenuto in fruttosio dell'eiaculato sia funzione della stimolazione testosteronica (<sup>48-49</sup>). Secondo Schirren (<sup>50</sup>) una diminuzione del fruttosio può essere la sola causa di sterilità, come ha osservato su un'ampia casistica di soggetti sterili senza altre anomalie.

Secondo la nostra esperienza tale determinazione non ha, in linea di massima, il significato preciso che le si è voluto assegnare. Non riteniamo infatti valide in senso assoluto le correlazioni fra fruttosio e testosteronemia in quanto troppi sono i fattori che possono far aumentare e soprattutto diminuire il tasso di fruttosio in presenza di normale stimolazione testosteronica. È noto infatti che nello sperma dei soggetti diabetici il fruttosio può essere anche molto elevato come derivazione dall'alto tasso glicemico (<sup>51</sup>). Diminuzioni del fruttosio sono invece frequenti dopo processi infiammatori a carico delle vescicole seminali (dalle quali è prevalentemente secreto questo glucide), dopo eiaculazioni incomplete o troppo frequenti (<sup>3</sup>). Lo stesso autore ritiene che anche per quanto riguarda la ricerca dell'acido citrico (di esclusiva produzione prostatica) i nessi ormonali e quelli relativi alla motilità della cellula germinale siano vaghi e di scarso significato.

Senza entrare nei particolari delle svariate valutazioni di numerose sostanze presenti nel plasma seminale, possiamo dire che non guardiamo con eccessiva fiducia al titolo di queste sostanze come indice di buona o cattiva stimolazione androgenica degli organi bersaglio sia perché, come abbiamo visto, troppo numerosi sono i fattori in grado di alterare i tassi di tali sostanze, sia perché si è oggi in possesso dei metodi di dosaggio radioimmunologico del testosterone plasmatico in grado di fornire risultati senza dubbio più fedeli al riguardo dell'attività ormonale del testicolo.

Secondo la nostra esperienza, quando il quadro clinico suggerisce la possibilità di un deficit testosteronico o quando comunque ci interessi dosare il principale



steroidi androgeno, ricorriamo a 3 prelievi plasmatici a digiuno in tre giorni consecutivi, sui quali effettuiamo la determinazione radioimmunologica del testosterone, dell'FSH e dell'LH.

La critica che abbiamo rivolto alle indagini biochimiche intese a sostituirsi alle titolazioni ormonali dirette del testosterone va senza dubbio ridotta quando si voglia usarle con lo scopo di avere un panorama sufficientemente completo del patrimonio energetico e metabolico a disposizione degli spermatozoi. Tuttavia anche in questo campo non si è giunti a trovare precise relazioni tra dosaggio di una qualche sostanza ed una precisa situazione patologica. Esempio tipico di uno di questi nessi, spesso arbitrariamente posti, è quello riguardante il rapporto tra l'enzima ialuronidasi e la capacità dello spermatozoo di penetrare nella cellula uovo. Ci si è infatti ben presto accorti che l'enzima non è strettamente indispensabile alla fecondazione<sup>(52)</sup>.

Un altro importantissimo parametro, con il quale si cerca di trovare relazioni attraverso alcune determinazioni biochimiche nel plasma, è rappresentato dalla motilità dello spermatozoo. Anche qui, malgrado siano numerose le sostanze implicate nel metabolismo energetico della cellula germinale, noi non riteniamo particolarmente utile eseguire di routine alcune delle varie determinazioni del fruttosio, del sorbitolo, della gliceril-fosforilcolina e del plasmalogeno etc., al fine di predire con sufficiente certezza un buon patrimonio energetico e quindi una buona motilità dello spermatozoo, utile non solo al momento dell'eiaculazione ma anche e soprattutto lungo il tragitto genitale<sup>(53)</sup>. La motilità è infatti un aspetto troppo complesso della fisiologia dello spermatozoo, condizionato anche da numerosi fattori insiti nell'apparato genitale femminile, perché si possa sperare di inquadrarla in maniera così semplice. Solo in alcuni casi di astenospermia isolata riteniamo effettivamente utile indagare sul patrimonio energetico a disposizione delle cellule seminali, tenuto anche conto che nella maggior parte dei casi si tratta di determinazione di laboratorio quasi sempre di facile e rapida esecuzione.

Tra le numerose determinazioni biochimiche del plasma seminale citiamo infine, quale metodo di diagnosi differenziale tra una azoospermia di natura secretiva o escretoria (quando questo non appaia chiaramente dai dati clinici ed obiettivi), la titolazione gascromatografica degli acidi grassi e del colesterolo<sup>(54)</sup>; nelle forme escretorie si avrebbe un aumento del colesterolo e degli acidi grassi liberi in particolare dell'acido palmitico, al contrario di ciò che accade nelle forme secretorie.

In conclusione vogliamo ricordare come delle numerose indagini biochimiche che sono state successivamente in auge, tutte si possono considerare utili ma nessuna di queste veramente indispensabile ed in grado di aggiungere contributi decisivi ad un esame seminale correttamente effettuato.

*L'agglutinazione spermatica:* Ai ginecologi sono noti i casi di sterilità nei quali gli esami della coppia risultano nei limiti della norma ad eccezione dei tests post-coitali che non mostrano la presenza di spermatozoi mobili nel muco cervicale, nonostante lo spermioγραμμα e la funzionalità ovarica risultino normali. In questi casi si è spinti a ricercare la causa di tale incompatibilità dei due secreti; mediante il test di invasione crociato in vitro di Müller-Kurzrock si può già stabilire se la causa di tale incompatibilità è attribuibile al partner maschile o femminile. L'alloimmunizzazione esula da questa trattazione, ma la autoimmunizzazione anti-spermatozoi nel maschio merita un cenno in quanto può già essere sospettata in corso di esame seminale. Infatti, nell'osservazione

di una goccia di sperma a fresco a piccolo ingrandimento con microscopio in contrasto di fase si possono riconoscere, se presenti, le zone di microagglutinazione, valutarne il numero, le dimensioni e l'aumento con il passare delle ore.

L'agglutinazione presente, che può essere in rari casi anche macroscopica, se al di fuori di fatti flogistici in atto delle vie seminali, e se escludiamo la dipendenza da altri fattori tossici, chimico-fisici o di altra natura non ancora identificata, può essere dovuta alla presenza di auto-anticorpi anti-spermatozoi che l'uomo può avere nel torrente circolatorio sanguigno e linfatico e nel plasma seminale, in conseguenza di traumi, flogosi, legature accidentali o volontarie dei deferenti o dell'epididimo che abbiano provocato un'occlusione totale temporanea o parziale delle vie escrettrici e quindi ritenzione degli spermatozoi ed il loro travaso nel tessuto interstiziale con successiva reazione immunitaria da parte dell'apparato immuno-competente del soggetto (<sup>55-56-57-58-59</sup>).

Pertanto, se nello studio della motilità del seme si notano zone di microagglutinazione, è sempre bene accertarsi, dopo ripetuti post-coital-tests negativi, della presenza di autoanticorpi, ad esempio mediante la tecnica dell'immunofluorescenza diretta sulle biopsie testicolari studiata da Le Lorier, Salat e Rothman (<sup>60</sup>).

Pertanto, questa attenzione nell'osservazione di un vetrino di sperma a fresco può farci risparmiare del tempo nelle indagini sulla coppia, orientarci su una strada più vicina alla realtà e distoglierci magari da una terapia errata; quindi noi riteniamo che la ricerca della agglutinazione, quale parametro importante, faccia parte di un corretto esame seminale.

### RIASSUNTO

Gli autori valutano criticamente, alla luce delle recenti acquisizioni, la validità ed il significato relativo dei più importanti parametri del liquido seminale. Si sottolineano le diverse opinioni da autore ad autore.

Si auspica, infine, che il giudizio dell'esame seminale sia ottenuto non isolatamente ma nel contesto di tutte le ricerche cliniche e di laboratorio sia di andrologia che di ginecologia le quali assommate costituiscono lo studio della coppia sterile.

### BIBLIOGRAFIA

1. Giarola A. e Coll.: *Ann. Ost. Ginec.* 87, 543; 1965. - 2. Hellinga C.: *Int. J. Fet.* 4, 10; 1959. - 2a. Hellinga G.: *The 6th Conf. of the Europe and Near East Region of the I.P.P.F.*, Budapest Sett. 1969. - 3. Giarola A.: *Corso di diagnostica nella sterilità maschile*, Milano, Maggio 1974. - 4. S. Leon Israel: *Il fattore maschile nei matrimoni sterili - Turbe Mestruali e sterilità*, Piccin Ed., Padova, 1970, pag. 486. - 5. MacLeod J., Gold R. Z., Maclane C. M.: *Fert. & Steril.* 6, 112; 1955. - 6. MacLeod J., Hotchkiss R. S.: *J. Urol.* 48, 225; 1942. - 7. Eliasson R.: *Parameters of male fertility - Human reproduction*, Hafez-Evans Ed., 1973. - 8. Belonoschkin B.: *Med. Wschr.* 86, 847; 1939. - 9. Belonoschkin B.: *Zeugung beim Menschen im lichte der Spermatozoenlehre*, Syöbergs, Stoccolma 1949. - 10. Cohen J.: *Les stérilités masculines en pratique gynécologique*, Paris, pag. 52, 1972. - 11. Mann T.: *The biochemistry of semen*, London, Methuen, 1954. - 12. Schuermann H., Duepfmer R.: *Fertilitäts storungen beim Manner*, Springer, Berlin, 1960. - 13. Raboch J. A. N., Skachova J.: *Fert. & Steril.* 16, 2, 252/256; 1965. - 14. Chang M. C.: *Science* 104, 361; 1946. - 15. Macleod J., Gold R. Z.: *J. Urol.* 66, 436; 1951. - 16. Hotchkiss R. S., Brunner E. K., Grenley P.: *Am. J. Med. Sc.*, 196, 362; 1939. - 17. Zanartu J., Hamblen E. C.: *Fert. & Steril.*, 2, 248; 1960. - 18. Macleod J., Gold R. Z.: *Fert. & Steril.*, 3, 297; 1952. - 19. Zondek B., Bromberg

Y. M., Polishk Z.: *Nature*, 161, 176; 1948. - 20. Schirren C.: *Atti del II Corso di aggiornamento sulla sterilità Coniugale*, Palermo, 19, 22 Aprile, 1972 pag. 159. - 21. Schoysman R.: *III Corso di aggiornamento sulla sterilità coniugale*, Palermo 23-27 Aprile, 1974. - 22. Macmillan E. W., Aukland J.: *J. Rep. Fert.*, 1, 139; 1960. - 23. Bacchetti B.: *Corso di diagnostica della sterilità maschile*, Milano 6-8 Maggio, 1974. - 24. Kristeller S.: *Berl. Klin. Wschr.*, 8, 315; 1971. - 25. Seeligmann L.: *Zbl. Gynäk.*, 20, 429; 1896. - 26. Strassmann P.: *Vordringen der Spermien*. In: « Winkel's Handbuch der Geburtshilfe », Bd. I/1, Bergmann, Wiesbaden, 1903. - 27. Oettle A. G.: *Fert. & Steril.*, 5, 227; 1954. - 28. Peterson R. N., Freund M.: *Fert. & Steril.*, 21, 2, 70, pag. 151. - 29. Bondani, Azpeitia: *Excerpta Med. 7<sup>th</sup> Congress Fert. Steril.*, Tokyo, 1971. - 30. S. Leon Israel: *Il fattore maschile nei matrimoni sterili*. « Turbe Mestruali e sterilità », Piccin Ed., Padova, 1970 pag. 476. - 31. Joël C. A., Kornhauser S.: *Fert. & Steril.* 7, 430; 1956. - 32. Hartman C. G.: *Fert. & Steril.* 8, 407, 1957. - 33. Rubenstein B. B., Strauss H., Lazzarus M. L., Hankin H.: *Fert. & Steril.* 2, 15, 1951. - 34. Cary W. H.: *N.Y. St. J. Med.* 30, 131, 1930. - 35. Janick J., Macleod J.: *Fert. & Steril.* 21, 2, 140; 1970. - 36. David G. e Coll.: *Comunicazione Soc. Gynec. Obst.*, 5 maggio 1971. - 37. Freund M.: *Int. J. Fertil.*, 11, 97, 1966. - 38. Macleod J.: *Fert. & Steril.*, 13, 29, 1962. - 39. Moench G. L.: *Am. J. Surg.*, 47, 586, 1940. - 40. Macleod J.: *Fert. & Steril.*, 16, 735, 1965. - 41. Mancini R. E.: *Corso sulla sterilità maschile*, Milano 6-8 Maggio, 1974. - 42. Cohen M. R., Stein I. F.: *Fert. & Steril.*, 2, 20; 1951. - 43. Dutrillaux B. e Coll.: *La Presse Medicale*, 27, 1931, 1971. - 44. Dutrillaux B., Gueguen J.: *Ann. Génét.*, 14, 49; 1971. - 45. Pomerol A.: *Corso sulla diagnostica della sterilità maschile*, Milano 6-8 Maggio 1974. - 46. Mann T.: *The biochemistry of semen and of the male reproductive tract*, London, Methuen and Co. Ltd. 1964. - 47. Calamera J. C., Lavieri G. C.: *Bel. Centro Endocrinol. y Metabol.* 7, 3, 149; 1968. - 48. Mann T.: *Biochem. J.*, 40, 481; 1946. - 49. Schirren C.: *Fertilitätsstörungen des Mannes*, Enke, Stoccarda, 1961. - 50. Schirren C.: *J. Reprod. Fertil.*, 5, 347; 1963. - 51. Mann T., Parson U.: *Biochem. J.*, 46, 440; 1950. - 52. Austin C. R.: *J. Reprod. Fertil.*, 1, 310; 1960. - 53. Calamera G. C.: *Corso di diagnostica sulla sterilità maschile*, Milano 6-8 Maggio, 1974. - 54. Ros A., Storace A., Misurale F.: *Atti 52° Congresso Soc. It. Ost. Gin.*, Roma 1966. - 55. Bratanov K., Dikov V., Popova Y.: *C. R. Acad. Bulg. Sci.*, 17, 1117, 1964. - 56. Raitsina S. S. e Coll.: *Proceed. Int. Symp. Immunol. Sperm. Fertil.*, Varna Bulgaria, Bulgarian Academy of Sciences Press., Sofia, 212, 1967. - 57. Andrada J. A., Andrada E. C., Witesbky E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 130, 1106, 1969. - 58. Rumke Ph., Titus M.: *J. Reprod. Fertil.*, 21, 69; 1970. - 59. Cohen J.: *Atti 2° Corso di aggiornamento sulla sterilità coniugale*, Palermo, Aprile 1972. - 60. Le Lorier G., Salat J., Rotman J.: *La Presse Medicale*, 73, 21, 969, 1970.

## Modificazioni dell'equilibrio acido-base del sangue uterino indotte dal trattamento della sindrome da congestione pelvica

P. GRELLA \*, E. ZARDINI \*, G. D. MONTANARI \*\*,  
A. ROS \* e R. CERUTTI \*

Le modificazioni circolatorie pelviche da cause ostetriche o ginecologiche restano spesso difficilmente quantificabili dal punto di vista clinico. Abbiamo in precedenza descritto un metodo <sup>(1,2)</sup> per la misurazione diretta della stasi circola-

\* 2° Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Padova (Dir. Prof. A. Onnis).

\*\* Scuola Autonoma di Ostetricia di Bolzano (Dir. suppl. Prof. G. D. Montanari).