



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Corso di laurea in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina

Direttore: prof. Roberto Vettor

UOC Andrologia e Medicina della Riproduzione

Direttore: prof. Alberto Ferlin

TESI DI LAUREA

**Parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare
nei soggetti candidati a sclerotizzazione di varicocele**

Relatore: Prof. Andrea Garolla

Correlatore: Dott. Luca De Toni

Laureanda: Sara Congiu

Anno Accademico: 2022/2023

Indice

RIASSUNTO.....	6
1. INTRODUZIONE.....	13
1.1 INQUADRAMENTO EPIDEMIOLOGICO DEL VARICOCELE.....	13
1.1.1 Definizione di varicocele.....	13
1.1.2 Epidemiologia.....	13
1.2 IPOTESI EZIOLOGICHE.....	14
1.2.1 Fattori genetici di predisposizione.....	15
1.2.2 Anatomia del sistema venoso testicolare.....	16
1.2.3 Incompetenza del sistema valvolare venoso.....	17
1.2.4 Nutcracker syndrome.....	17
1.2.5 Altre cause.....	18
1.3 FISILOGIA DELLA FUNZIONE TESTICOLARE.....	18
1.3.1 Cenni di spermatogenesi.....	18
1.3.2 Funzione endocrina del testicolo.....	20
1.4 VARICOCELE E INFERTILITA'.....	22
1.4.1 Meccanismi patogenetici nel testicolo con varicocele.....	22
1.4.1.1 Aumento della temperatura scrotale.....	22
1.4.1.2 Ipossia tissutale testicolare.....	25
1.4.1.3 Ipotesi dello stress ossidativo.....	26
1.4.1.4 Altre ipotesi.....	27
1.4.2 Effetti del varicocele sulla spermatogenesi.....	27
1.4.3 Effetti del varicocele sulla funzione endocrina del testicolo.....	29
1.5 DIAGNOSI DI VARICOCELE.....	31
1.5.1 Visita andrologica ed esame obiettivo.....	31
1.5.2 Ecocolordoppler scrotale.....	32
1.5.3 Ecografia scrotale con mezzo di contrasto e studio di perfusione.....	33
1.6 OPZIONI TERAPEUTICHE DEL VARICOCELE.....	35
1.6.1 Criteri di eleggibilità alla terapia invasiva del varicocele.....	35
1.6.2 Terapia chirurgica.....	35
1.6.2.1 Legatura sovra-inguinale retro-peritoneale (tecnica di Ivanessevich).....	36
1.6.2.2 Legatura sovra-inguinale retro-peritoneale (tecnica di Palomo).....	36
1.6.2.3 Microchirurgia con accesso sub-inguinale o scrotale.....	37
1.6.2.3 Varicocelectomia con tecnica laparoscopica.....	38
1.6.3 Terapia mininvasiva endovascolare.....	38
1.6.3.1 Sclerotizzazione anterograda secondo Tauber.....	38
1.6.3.2 Sclerotizzazione retrograda con accesso trans-femorale.....	39
1.6.4 Confronto tra le diverse opzioni terapeutiche invasive.....	40
1.6.5 Miglioramento della funzione testicolare dopo la terapia.....	40
1.6.6 Terapia farmacologica.....	42
OBIETTIVI DELLO STUDIO.....	42

2. MATERIALI E METODI.....	43
2.1 Popolazione di studio.....	43
2.2 Raccolta dati.....	43
2.2.1 Anamnesi del paziente.....	43
2.2.2 Esame obiettivo andrologico.....	44
2.2.3 Studio dei parametri seminali.....	44
2.2.4 Studio dei cromosomi e del DNA spermatico.....	46
2.2.5 Studio degli ormoni sessuali.....	47
2.2.6 Ecocolordoppler scrotale.....	48
2.2.7 Ecografia scrotale con mezzo di contrasto.....	49
2.2.8 Intervento di scleroembolizzazione retrograda.....	49
2.2.9 Intervento di scleroembolizzazione anterograda seconda Tauber.....	51
2.3 Analisi statistiche.....	51
3. RISULTATI.....	52
3.1 Analisi dei dati pre-intervento.....	52
3.1.1 Analisi dei dati sul campione generale.....	52
3.1.1.1 Distribuzione per età.....	52
3.1.1.2 Valori ormonali.....	53
3.1.1.3 Parametri seminali.....	54
3.1.1.4 Parametri ecografici.....	55
3.1.1.5 Studio di correlazione prima dell'intervento.....	57
3.1.1.5.1 Età.....	57
3.1.1.5.2 Volume testicolare sinistro.....	59
3.1.1.5.3 Tempi di perfusione del testicolo sinistro.....	60
3.1.1.5.4 Grado di varicocele.....	62
3.1.2 Analisi dei dati divisi per tipo di intervento.....	63
3.1.2.1 Distribuzione per età.....	63
3.1.2.2 Valori ormonali.....	64
3.1.2.3 Parametri seminali.....	64
3.1.2.4 Parametri ecografici.....	66
3.2 Analisi dei dati post-intervento.....	68
3.2.1 Analisi dei dati sul campione generale.....	68
3.2.1.1 Valori ormonali.....	68
3.2.1.2 Parametri seminali.....	69
3.2.1.3 Parametri ecografici.....	70
3.2.2 Parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare.....	72
3.2.2.1 Variazione di conta spermatica totale.....	72
3.2.2.2 Variazione del numero di spermatozoi mobili totali.....	75
3.2.2.3 Parametri ecografici.....	70
3.2.3 Analisi dei dati per parametri seminali basali.....	76
3.2.4 Analisi dei dati per stato di perfusione.....	77
3.2.5 Analisi dei dati per tipo di intervento.....	78

3.2.5.1 Valori ormonali.....	78
3.2.5.2 Parametri seminali.....	79
3.2.5.3 Parametri ecografici.....	82
4. DISCUSSIONE.....	84
4.1 Limiti dello studio.....	90
5. CONCLUSIONI.....	91
BIBLIOGRAFIA.....	94
RINGRAZIAMENTI.....	100

RIASSUNTO

Background dello studio: Il varicocele è classicamente definito come un'abnorme dilatazione delle vene del plesso pampiniforme. Approssimativamente il 15% dei maschi adulti è affetto da varicocele. All'esame obiettivo il varicocele si presenta monolaterale sinistro nell'85-90% dei casi. Il varicocele destro è usualmente riscontrato nei più rari casi di bilateralità e ancor meno frequentemente si apprezza come reperto monolaterale. La prevalenza di varicocele aumenta se si va a considerare la popolazione maschile infertile: circa il 35% dei maschi valutati per infertilità primaria e l'80% dei maschi valutati per infertilità secondaria è affetto da varicocele. Il varicocele rappresenta quindi una delle patologie più frequentemente implicate nelle alterazioni del liquido seminale del paziente infertile, con comparsa di oligozoospermia, astenozoospermia e teratozoospermia più o meno severe. Tuttavia, molti pazienti portatori di varicocele non presentano alterazioni della spermatogenesi e sono fertili. Non esistono quadri seminali caratteristici di varicocele e i parametri seminali (concentrazione, motilità, morfologia) possono presentare alterazioni di grado variabile o risultare nei limiti di norma. La correlazione tra varicocele e infertilità è nota da molto tempo, ma ad oggi non è ancora chiara la natura di tale associazione: benché sia ormai accettato dalla comunità scientifica che il varicocele può, in alcuni pazienti predisposti, provocare un danno progressivo a livello dei tubuli seminiferi con alterazioni qualitative e quantitative dei parametri seminali, restano tuttora non adeguatamente comprese le modalità di insorgenza del danno testicolare. Tra le teorie che potrebbero spiegare la correlazione tra varicocele e infertilità finora proposte, le più accreditate sono l'aumento della temperatura scrotale, l'ipossia tissutale e lo stress ossidativo. I primi studi che testimoniano un miglioramento della qualità del liquido seminale e un aumento del tasso di concepimento in seguito al trattamento chirurgico del varicocele sono stati Barwell (1885), Bennett (1889), Macomber e Sanders (1929) e Tulloch (1952). Ad oggi sono disponibili anche tecniche di correzione del varicocele minimamente invasive ed eseguite per via endovascolare. In assenza di linee guida rimane tuttavia controverso quale sia la procedura migliore da consigliare al paziente nella quotidiana pratica clinica. Inoltre, in base alle conoscenze finora disponibili non è possibile pronosticare l'esito dell'intervento, in termini di recupero della funzione testicolare, in base al grado del varicocele e ai parametri seminali precedenti all'intervento. L'ecografia testicolare con mezzo di contrasto ha dato risultati promettenti nell'individuare una correlazione tra le alterazioni del microcircolo e il deficit di funzione testicolare nel paziente con varicocele, ma mancano ancora dei parametri predittivi di miglioramento dei parametri seminali dopo l'intervento.

Scopo dello studio: L'obiettivo primario di questo studio è analizzare da un punto di vista qualitativo e quantitativo il miglioramento dei parametri seminali, ormonali ed ecografici in seguito a intervento di scleroembolizzazione anterograda e retrograda del varicocele e confrontare il miglioramento della funzione testicolare ottenuto con le due tecniche. Obiettivo secondario è individuare dei parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare.

Materiali e metodi: Si tratta di uno studio retrospettivo osservazionale condotto su 73 soggetti maschi adulti affetti da varicocele. I pazienti sono stati reclutati presso l'Unità di Andrologia e Medicina della Riproduzione dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova, nel periodo compreso da gennaio 2009 a giugno 2023. Di questo campione, 32 pazienti sono stati sottoposti a scleroembolizzazione retrograda e 41 pazienti sono stati sottoposti a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber. Per la selezione dei pazienti sono state applicate le linee guida dell'Associazione Europea di Urologia (EAU) attualmente in vigore. Tutti i pazienti sono stati sottoposti, sia prima che dopo dell'intervento, a esame obiettivo andrologico, analisi del profilo ormonale, analisi del liquido seminale, ecocolordoppler scrotale ed ecografia scrotale con mezzo di contrasto. Il sottogruppo di pazienti trattato con scleroembolizzazione retrograda è stato sottoposto anche agli esami per lo studio delle anomalie dei cromosomi spermatici e della frammentazione del DNA spermatico. Sono stati considerati gli esami di follow-up nel periodo di 6-12 mesi successivo all'intervento.

Risultati: In seguito all'intervento di scleroembolizzazione, i pazienti del nostro studio andavano incontro a un miglioramento statisticamente significativo della concentrazione spermatica ($p=0.007$), del numero totale di spermatozoi ($p=0.017$), del numero totale di spermatozoi mobili ($p=0.017$) e dei parametri perfusori bilaterali, in particolare dei tempi MTT sinistro e destro ($p<0.001$). Il sottogruppo di pazienti sottoposto a scleroembolizzazione retrograda vedeva un miglioramento significativo anche dello stato di integrità del DNA spermatico ($p<0.01$). Il nostro studio non evidenziava nessuna correlazione statisticamente significativa tra il grado di varicocele e le alterazioni dei parametri seminali, ormonali ed ecografici prima dell'intervento. Dai nostri dati, anche il miglioramento percentuale dei parametri seminali, ormonali ed ecografici in seguito all'intervento non era in alcun modo associato con il grado di varicocele pre-sclerosi. Il valore di MTT basale sinistro, in particolare quando $>32s$, risultava invece predittivo di un aumento percentuale significativamente maggiore della concentrazione spermatica (611.9% versus 57.9%; $p=0,009$) e della conta spermatica totale (821.9% versus 145.7%; $p=0,037$).

Non sembravano esserci differenze significative in termini di miglioramento della funzione testicolare tra le due metodiche endovascolari di correzione del varicocele. Si evidenziava tuttavia una maggiore comparsa di anticorpi anti-spermatozoi nel sottogruppo di pazienti sottoposto a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber. In questo sottogruppo infatti si passa da una percentuale di pazienti positivi al Mar-test del 7.3% prima dell'intervento a una percentuale del 22.0% dopo l'intervento.

Conclusioni: Dai nostri dati emerge che un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro si associa a una riduzione della funzione spermatogenetica con una riduzione complessiva dei parametri seminali e una riduzione della qualità nucleare dello spermatozoo. L'intervento di scleroembolizzazione del varicocele, quando preceduto da un'opportuna selezione dei pazienti, si associa a un miglioramento significativo dei parametri seminali, della qualità nucleare dello spermatozoo e dello stato di perfusione del microcircolo testicolare bilaterale.

I pazienti oligozoospermici sono andati incontro a un miglioramento della funzione spermatogenetica significativamente maggiore rispetto ai pazienti normozoospermici; inoltre, valori basali di FSH e LH aumentati fino a 15 UI/l correlano positivamente con l'incremento percentuale del numero di spermatozoi totali e del numero di spermatozoi mobili totali dopo la sclerosi.

Alla luce dei dati ecografici emersi dallo studio, risulterebbe opportuno consigliare l'intervento di scleroembolizzazione ai pazienti con un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro prima dell'intervento, in particolare quando in presenza di valori basali di MTT sinistro > 32s. La scarsa numerosità campionaria e la non omogeneità dei due sottogruppi in termini di età, grado di varicocele e parametri perfusori rende difficilmente confrontabili le due metodiche di scleroembolizzazione utilizzate nel nostro studio. Tuttavia, il maggior tasso di positività al Mar-test dopo l'intervento di scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber potrebbe associarsi a un ridotto potenziale di fertilità. Ulteriori studi saranno necessari in futuro per confermare questo risultato e per stabilire se questi si associno a un minore tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento.

ABSTRACT

Background: Varicocele is classically defined as an abnormal dilation of the veins of the pampiniform plexus. Approximately 15% of adult males are affected by varicocele. On physical examination, the varicocele appears unilaterally on the left in 85-90% of the cases. Right varicocele is usually found in the rare cases of bilaterality and is even less frequently seen as a unilateral finding. The prevalence of varicocele increases if we consider the infertile male population: approximately 35% of males evaluated for primary infertility and 80% of males evaluated for secondary infertility are affected by varicocele. Varicocele therefore represents one of the pathologies most frequently implicated in alterations of the seminal fluid of infertile patients, with the appearance of more or less severe oligozoospermia, asthenozoospermia and teratozoospermia. However, many patients with varicoceles do not have alterations in spermatogenesis and are fertile. There are no seminal patterns associated with varicocele and the seminal parameters (concentration, motility, morphology) may present alterations of variable degrees or be within normal limits.

The correlation between varicocele and infertility has been known for a long time, but the nature of this association is still unclear: although it is now accepted by the scientific community that varicocele can cause, in some predisposed patients, progressive damage to the seminiferous tubules with qualitative and quantitative alterations of seminal parameters, the ways in which testicular damage occurs are still not adequately understood. Among the theories that could explain the correlation between varicocele and infertility proposed so far, the most accredited are the increase in scrotal temperature, tissue hypoxia and oxidative stress.

The first studies demonstrating an improvement in the quality of seminal fluid and an increase in the conception rate following surgical treatment of varicocele were Barwell (1885), Bennett (1889), Macomber and Sanders (1929) and Tulloch (1952). To date, minimally invasive varicocele correction techniques are available and performed endovascularly. In the absence of guidelines, however, it remains controversial which is the best procedure to recommend to the patient in daily clinical practice. Furthermore, based on the knowledge available so far it is not possible to predict the outcome of the operation, in terms of recovery of testicular function, based on the degree of the varicocele and the seminal parameters prior to the operation. Testicular ultrasound with contrast medium has given promising results in identifying a correlation between microcirculatory alterations and testicular function deficit in patients with varicocele, but predictive parameters for improvement of semen parameters after surgery are still lacking.

Aim of the study: The primary objective of this study is to analyze from a qualitative and quantitative point of view the improvement in seminal, hormonal and ultrasound parameters following anterograde and retrograde scleroembolization of the varicocele and to compare the improvement in testicular function obtained with the two techniques. The secondary objective is to identify predictive parameters for the improvement of the testicular function.

Materials and methods: This is a retrospective observational study conducted on 73 adult male subjects suffering from varicocele. The patients were recruited at the Andrology and Reproductive Medicine Unit of the University Hospital of Padua, in the period from January 2009 to June 2023. Of this sample, 32 patients underwent retrograde scleroembolization and 41 patients were subjected to antegrade scleroembolization according to Tauber. For the selection of patients, the guidelines of the European Association of Urology (EAU) currently in force were applied. All patients underwent, both before and after the operation, an andrological objective examination, hormonal profile analysis, semen analysis, scrotal Doppler ultrasound and scrotal ultrasound with contrast medium. The subgroup of patients treated with retrograde scleroembolization also underwent tests to study sperm chromosome anomalies and sperm DNA fragmentation. We considered follow-up examinations in the period of 6-12 months following surgery.

Results: Following scleroembolization surgery, the patients in our study experienced a statistically significant improvement in sperm concentration ($p=0.007$), total number of spermatozoa ($p=0.017$), total number of motile spermatozoa ($p=0.017$) and bilateral perfusion parameters, in particular left and right MTT times ($p<0.001$). The subgroup of patients undergoing retrograde scleroembolization also saw a significant improvement in the integrity of sperm DNA ($p<0.01$). Our study did not highlight any statistically significant correlation between the degree of varicocele and the alterations of seminal, hormonal and ultrasound parameters before surgery. From our data, even the percentage improvement in semen, hormonal and ultrasound parameters following the operation was in no way associated with the degree of pre-sclerosis varicocele. The basal left MTT value, in particular when $>32s$, was instead predictive of a significantly greater percentage increase in sperm concentration (611.9% versus 57.9%; $p=0.009$) and total sperm count (821.9% versus 145.7%; $p=0.037$). There appeared to be no significant differences in terms of improvement in testicular function between the two endovascular methods of varicocele correction. However, there was a greater appearance of anti-sperm antibodies in the subgroup of patients undergoing antegrade

scleroembolization according to Tauber. In this subgroup, in fact, the percentage of Mar-test positive patients went from 7.3% before the operation to a percentage of 22.0% after the operation.

Conclusions: From our data it emerges that a slowing of the left testicular microcirculation is associated with a reduction in spermatogenic function with an overall reduction in seminal parameters and a reduction in the nuclear quality of the sperm. Varicocele scleroembolization surgery, when preceded by appropriate patient selection, is associated with a significant improvement in seminal parameters, in the nuclear quality of the sperm and in the state of perfusion of the bilateral testicular microcirculation.

Oligozoospermic patients experienced a significantly greater improvement in spermatogenic function compared to normozoospermic patients; furthermore, basal FSH and LH values increased up to 15 IU/l positively correlate with the percentage increase in the number of total spermatozoa and the number of total motile spermatozoa after sclerosis.

In light of the ultrasound data emerging from the study, it would be appropriate to recommend scleroembolization surgery to patients with a slowing of the left testicular microcirculation before surgery, in particular when in the presence of baseline left MTT values > 32s.

The small sample size and the non-homogeneity of the two subgroups in terms of age, degree of varicocele and perfusion parameters make it difficult to compare the two scleroembolization methods used in our study. However, the higher Mar-test positivity rate after antegrade scleroembolization surgery according to Tauber could be associated with a reduced fertility potential. Further studies will be necessary in the future to confirm this result and to establish whether these are associated with a lower rate of spontaneous pregnancy after surgery.

1. INTRODUZIONE

Il varicocele è una delle più frequenti patologie a carico dell'apparato riproduttivo maschile e una delle cause riconosciute di infertilità. Lo sviluppo di varicocele è stato da tempo correlato con una riduzione del potenziale riproduttivo maschile e con un impatto negativo sulla funzione esocrina ed endocrina del testicolo.

1.1 Inquadramento epidemiologico del varicocele

1.1.1 Definizione di varicocele

Il varicocele è classicamente definito come un'abnorme dilatazione delle vene del plesso pampiniforme associata a reflusso venoso. Il plesso pampiniforme è un sistema venoso che prende origine dal margine posteriore del testicolo e dalla testa dell'epididimo e che accompagna l'arteria testicolare fino al canale inguinale, per poi proseguire verso i grossi vasi venosi addominali retroperitoneali. Nella sua parte terminale il sistema venoso testicolare presenta delle differenze tra il lato destro e il lato sinistro: la vena testicolare a destra sbocca con angolo acuto nella vena cava inferiore, mentre a sinistra sbocca con angolo di 90° nella vena renale omolaterale.

1.1.2 Epidemiologia

Secondo i dati disponibili in letteratura si osserva la presenza di varicocele nel 15% della popolazione maschile generale, nel 35% degli uomini con infertilità primaria e nell'80% degli uomini con infertilità secondaria¹. (1,2)

Studi epidemiologici hanno dimostrato che nella maggiorparte dei casi il varicocele insorge durante l'età peripuberale con una prevalenza $\leq 1\%$ nei bambini di 2-10 anni, del 7,8% nei ragazzi di 11-14 anni, del 14,1% nei ragazzi di 15-19 anni. (3)

Studi più recenti suggeriscono che la prevalenza del varicocele nei maschi adulti abbia una correlazione con l'età. Levinger et al hanno osservato un aumento della prevalenza del varicocele approssimativamente del 10% per ogni decade di vita. (Figura 1) Secondo questo

¹ Parliamo di infertilità primaria quando una coppia, dopo un anno di rapporti sessuali non protetti e mirati, non è in grado di dare inizio a una gravidanza. Parliamo invece di infertilità secondaria quando una coppia, dopo un anno di rapporti sessuali non protetti e mirati, non riesce ad ottenere una gravidanza, pur avendo avuto già uno o più figli in precedenza.

studio la prevalenza del varicocele era riportata del 18% negli adulti di 30-39 anni, del 24% negli adulti di 40-49 anni, del 33% negli adulti di 50-59 anni, del 42% negli adulti di 60-69 anni, del 53% negli anziani di 70-79 anni, e del 75% negli anziani di 80-89 anni. (4, Tabella 1)

<i>Età</i>	<i>Partecipanti</i>	<i>Varicocele</i>	<i>% Varicocele</i>
30-39	105	19	18
40-49	78	18	24
50-59	101	33	33
60-69	96	40	42
70-79	88	47	53
80-89	16	12	75

Tabella 1. Numero di pazienti divisi per età, numerosità e prevalenza del varicocele (4)

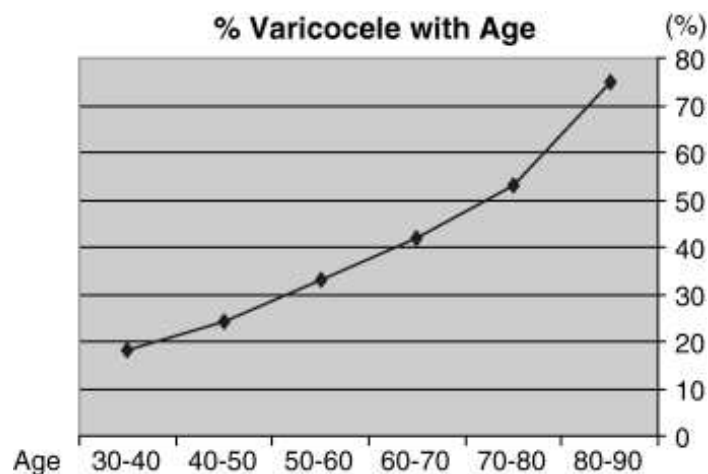


Figura 1. Rapporto tra prevalenza del varicocele ed età (4)

1.2 Ipotesi eziologiche

La nostra comprensione della patogenesi del varicocele rimane a oggi non esaustiva. Oltre il 95% delle condizioni di varicocele è legato a una situazione idiopatica (varicocele primario). E' possibile che fattori costituzionali, analogamente a quanto si verifica per le vene degli arti inferiori, condizionino una debolezza della parete venosa, con progressivo sfiancamento della stessa; ciò porta a una conseguente incontinenza valvolare con la comparsa del reflusso ematico retrogrado caratteristica saliente del varicocele. Va segnalato, tuttavia, che eventuali processi espansivi retroperitoneali o pelvici comprimono le strutture venose possono causare un ostacolo al deflusso venoso e la comparsa di varicocele secondario.

1.2.1 *Fattori genetici*

La familiarità è senza dubbio un fattore predisponente all'insorgenza del varicocele. Raman et al (2005) hanno osservato un RR=8 di sviluppare varicocele nei parenti di primo grado di pazienti affetti, con una prevalenza del 56%. (5, Tabella 2)

<i>Coorte</i>	<i>Pazienti (n)</i>	<i>Varicocele %</i>	<i>Monolaterale (L/R)</i>	<i>Bilaterale</i>	<i>Grado I</i>	<i>Grado II</i>	<i>Grado III</i>
<i>Pazienti</i>	44	44/44 (100%)	16 (16/0)	28	16	18	38
<i>Parenti di 1° grado</i>	62	35/62 (56,5%)*	20 (19/1)	15	16	17	17
<i>Controlli</i>	263	18/263 (6,8%)	13 (12/1)	5	0	10	13

Legenda: L/R = sinistro/destro

*p-value $\leq 0,0001$ rispetto alla popolazione di controllo

Tabella 2. Caratteristiche del varicocele in pazienti affetti, parenti di primo grado e controlli (5)

In uno studio successivo Moktari et al (2008) hanno osservato una prevalenza di varicocele in parenti di primo grado del 45.4%, contro l'11% del gruppo di controllo. (6, Tabella 3)

<i>Coorte</i>	<i>Pazienti (n)</i>	<i>Varicocele %</i>	<i>Monolaterale (L/R)</i>	<i>Bilaterale</i>	<i>Grado I</i>	<i>Grado II</i>	<i>Grado III</i>
<i>Pazienti</i>	62	62/62 (100%)	56 (56/0)	6	3	8	51
<i>Parenti di 1° grado</i>	88	40/88 (45,4%)*	36 (36/0)	4	14	9	17
<i>Controlli</i>	100	11/100 (11%)	8 (8/0)	3	1	3	7

Legenda: L/R = sinistro/destro

*p-value $\leq 0,0001$ rispetto alla popolazione di controllo

Tabella 3. Caratteristiche del varicocele in pazienti affetti, parenti di primo grado e controlli (6)

Questi studi suggeriscono che lo sviluppo di varicocele possa essere influenzato da fattori genetici ereditari. Ci sono alcune evidenze in letteratura che il polimorfismo rs1799983 del gene NOS3 (ossido nitrico sintasi 3) ricorra con una maggiore frequenza nei pazienti con varicocele idiopatico. (7) Quali siano i geni implicati in una maggiore predisposizione allo sviluppo di tale patologia rimane tuttavia oggetto di studio.

1.2.2 Anatomia del sistema venoso testicolare

Le vene testicolari sono vasi venosi che trasportano il sangue refluo dalle gonadi maschili verso il sistema cavale inferiore. Esse originano a livello delle gonadi dalla confluenza dei rami venosi che costituiscono il plesso pampiniforme. Inizialmente sono costituite da due vasi che circondano le arterie testicolari, di cui seguono il decorso. Giunti in prossimità della vena cava inferiore, i due vasi confluiscono in un unico tronco che, a destra, sbocca con un angolo acuto nella vena cava inferiore, mentre a sinistra sbocca con un angolo di 90° nella vena renale sinistra. (8) (Figura 2)

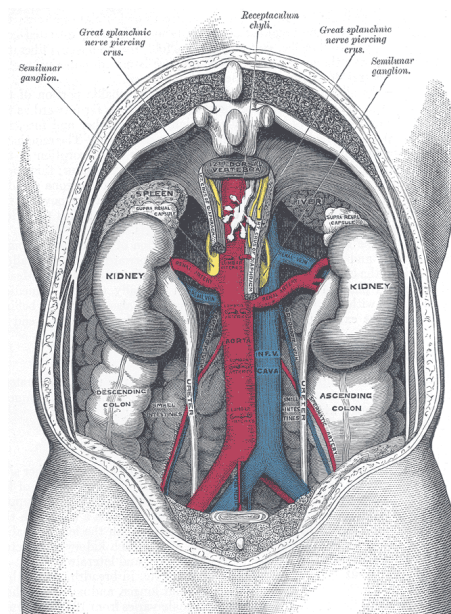


Figura 2. Anatomia del sistema venoso testicolare (5)

La diversità di tale angolatura, unitamente alle differenti caratteristiche di diametro e regime pressorio della vena di destinazione e di lunghezza della colonna ematica (più alta a sinistra, dove il testicolo sarebbe mediamente più basso e il percorso sarebbe allungato dal tratto aggiuntivo tra vena renale sinistra e vena cava inferiore) spiegherebbe in termini emodinamici e idrostatici la maggiore incidenza di varicocele idiopatico a sinistra. Infatti, all'esame obiettivo il varicocele si presenta monolaterale sinistro nell'85-90% dei casi. Il varicocele destro è usualmente riscontrato nei più rari casi di bilateralità e ancor meno frequentemente si apprezza come reperto monolaterale. (9)

1.2.3 Incompetenza del sistema valvolare venoso

L'assenza o l'incompetenza del sistema valvolare venoso unidirezionale delle vene testicolari (Figura 3) potrebbe essere un importante fattore che contribuisce allo sviluppo di varicocele, con un aumento della pressione in vena testicolare sinistra.

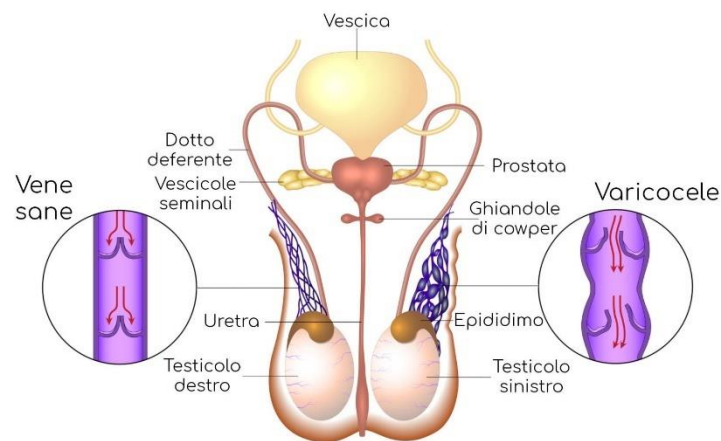


Figura 3: Sistema valvolare venoso nel testicolo con varicocele

In uno studio di Sofikitis et al (1993) è stata dimostrata l'assenza di valvole venose unidirezionali nella vena testicolare sinistra a livello pelvico e lombare rispettivamente nel 33% e nel 37% dei pazienti. (10)

In uno studio successivo di Braedel et Al (1994) un campione di 659 pazienti è stato sottoposto a valutazione flebografica del varicocele idiopatico sinistro. In 484 casi (73,4%) si è riscontrata l'assenza di valvole venose unidirezionali nella vena testicolare sinistra. (11)

1.2.4 Nutcracker syndrome

Con l'espressione "*nutcracker phenomenon*" (lett. fenomeno dello schiaccianoci) ci riferiamo alla compressione della vena renale sinistra tra l'aorta addominale e l'arteria mesenterica superiore (*nutcracker phenomenon anteriore*) ovvero tra l'aorta addominale e la colonna vertebrale (*nutcracker phenomenon posteriore*). (Figura 4) La sua presenza non è sempre associata a manifestazioni cliniche e in molti casi può rappresentare una variante anatomica senza significato patologico. La maggiorparte delle forme sintomatiche (*nutcracker syndrome*) si rivelano a partire dalla seconda-terza decade di vita e il corredo sintomatologico, spesso esacerbato dall'attività fisica, comprende micro-macroematuria, proteinuria ortostatica, dolore e comparsa di varicocele. (12)

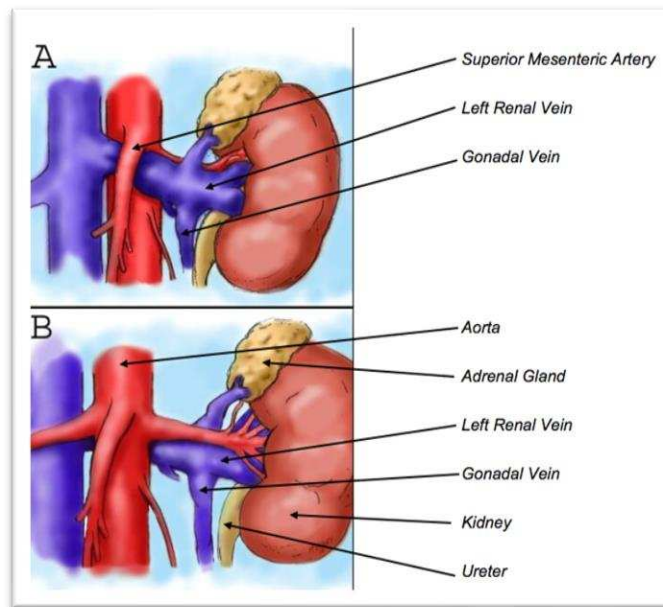


Figura 4: Nutcracker syndrome anteriore e posteriore

1.2.5 Altre cause

In rare occasioni l'aumento di pressione in vena testicolare può essere secondario alla presenza di processi espansivi renali o retroperitoneali (varicocele secondario). La comparsa di varicocele in età adulta o in sede monolaterale destra deve quindi spingere il clinico a escludere prima di tutto eventuali patologie compressive estrinseche.

1.3 Fisiologia della funzione testicolare

1.3.1 Cenni di spermatogenesi

La spermatogenesi è definita come la sequenza differenziativa e maturativa delle cellule germinali, che partendo dagli spermatogoni arriva alla formazione degli spermatozoi. Questo processo si compone di tre fasi: la replicazione delle cellule staminali (mitosi), la meiosi I e II, e la spermiogenesi propriamente detta che consiste nella maturazione dello spermatoide a spermatozoo. La durata media del ciclo completo di spermatogenesi è di circa 70 giorni. La spermatogenesi si svolge all'interno della parete del tubulo seminifero. La sequenza maturativa ha andamento centripeto, trovandosi gli spermatogoni adesi alla membrana basale e i vari stadi maturativi verso il lume tubulare. (13)

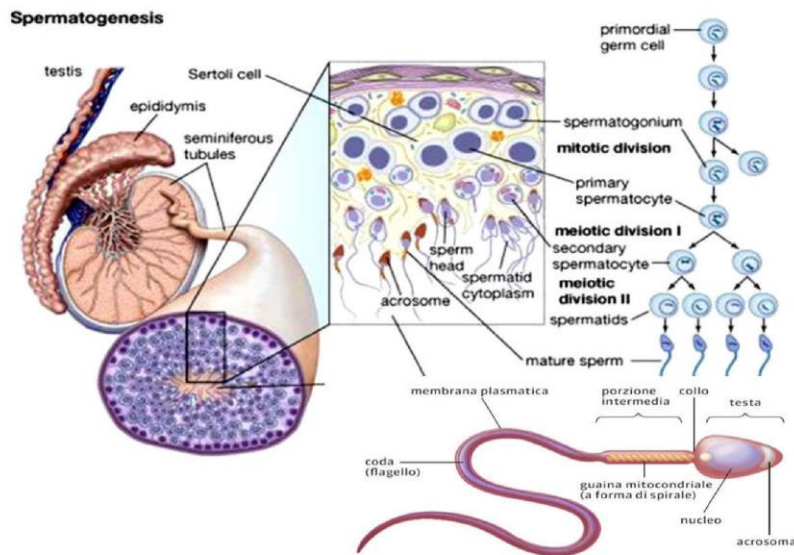


Figura 5. Spermatogenesi e struttura dello spermatozoo (14)

Lo spermatozoo umano, così come quello di altri vertebrati, è formato da due regioni morfologicamente e funzionalmente distinte, racchiuse da un'unica membrana plasmatica: la testa, che contiene il nucleo aploide e l'acrosoma, e la coda, che fornisce allo spermatozoo la motilità necessaria per raggiungere la cellula uovo e perforarne il rivestimento. La testa dello spermatozoo umano ha un diametro di 4-5 μm , mentre la coda è lunga circa 50 μm . La testa dello spermatozoo è composta da due parti: il nucleo, contenente cromatina fortemente addensata e in corredo aploide, e l'acrosoma, lisosoma primario di notevoli dimensioni che incappuccia il nucleo per 2/3 della sua lunghezza il cui compito è quello di aprirsi un varco nella parete dell'ovulo grazie ad enzimi litici in esso contenuti e liberati al momento opportuno. La notevole condensazione della cromatina è resa possibile da un particolare tipo di istone ricco di arginina (detto istone germinale o protammina), che si sostituisce all'istone tradizionale ricco di lisina: in questo modo si ottiene una notevole riduzione delle dimensioni nucleari che facilita il moto degli spermatozoi e l'inattività del genoma in esso contenuto durante il tragitto che porterà pochi spermatozoi nei pressi dell'ovulo da fecondare. Durante la fecondazione, l'unione dello spermatozoo con l'ovocita secondario, innesca la liberazione degli enzimi idrolitici responsabili della digestione della membrana extracellulare dell'oocita, facilitando così l'accesso dello spermatozoo alla membrana plasmatica dell'oocita stesso. Questo processo prende il nome di "reazione acrosomiale". (Figura 5)

I testicoli nell'uomo e nella maggior parte degli animali sono collocati nello scroto, al di fuori dell'addome, dove si trovano ad una temperatura di 2-8°C inferiore rispetto a quella corporea. Inoltre, i testicoli sono dotati di un sistema di vasi posto tra il plesso pampiniforme e l'arteria testicolare che permette di eliminare il calore eccessivo. Queste caratteristiche assicurano ai testicoli una temperatura controllata che garantisce il normale completamento della spermatogenesi. (15) Sia nell'uomo che nell'animale è stato dimostrato come un aumento della temperatura scrotale si associ a un danno della spermatogenesi (16, 17). Sia un'esposizione ad alte temperature per un breve periodo, sia un'esposizione a modesti aumenti di temperatura per periodi più prolungati, sono in grado di danneggiare quantitativamente e qualitativamente la spermatogenesi. L'esposizione dei testicoli al calore nell'uomo può essere secondaria a vari fattori acquisiti come l'esposizione occupazionale, il criptorchidismo, gli stili di vita, l'abbigliamento, l'attività fisica, il varicocele e l'obesità.

Affinchè il processo di spermatogenesi sia efficace sono necessarie anche una corretta vascolarizzazione testicolare, l'integrità dell'apparato cellulare testicolare (cellule di Leydig, cellule del Sertoli) e dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade.

1.3.2 Funzione endocrina del testicolo

La funzione della gonade maschile è regolata dall'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo mediante un classico meccanismo a feedback negativo. (Figura 6)

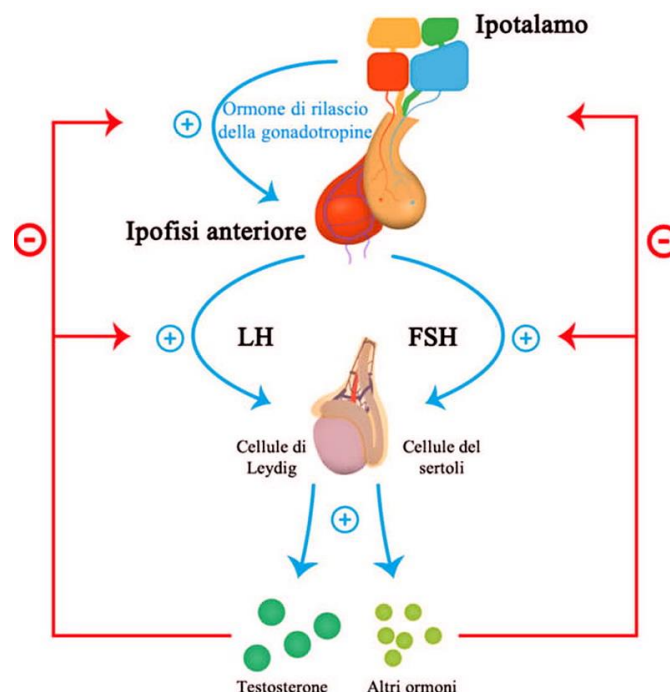


Figura 6. Asse ipotalamo-ipofisi-testicolo

Il principale centro ipotalamico regolante la secrezione gonadotropinica ipofisaria è il nucleo arcuato secernente GnRH. Questo fattore di rilascio ipotalamico viene secreto nel circolo portale ipofisario in modo pulsatile in risposta a svariati stimoli eccitatori e inibitori. Nelle cellule gonadotrope ipofisarie il GnRH stimola la liberazione di LH e FSH. L'LH (ormone luteinizzante) agisce tramite il proprio recettore di membrana sulle cellule di Leydig stimolando la secrezione di testosterone, mentre l'FSH stimola specificamente le cellule del Sertoli e la spermatogenesi. Le cellule del Sertoli sono responsabili di importanti funzioni tra cui il sostegno e la nutrizione delle cellule germinali, la secrezione di fattori che regolano la spermatogenesi (fattori di crescita e citochine), la costituzione della barriera ematotesticolare, la produzione della proteina legante gli androgeni (ABP), la secrezione di alcuni prodotti (come TGF- α e TGF- β stimolanti la secrezione androgenica, IL-1 con azione opposta) con azione paracrina sulle cellule di Leydig e la produzione endocrina di inibina. (13) Anche il meccanismo di retro-controllo centrale mantiene questa divisione dicotomica per cui il testosterone e i suoi derivati inibiscono l'LH ipofisario, mentre l'inibina prodotta dalle cellule del Sertoli blocca la secrezione di FSH.

La concentrazione ematica di testosterone presenta un ritmo circadiano, sotto controllo ipotalamo-ipofisario, con un picco nelle prime ore del mattino per poi calare nell'arco della giornata. Nel circolo ematico il testosterone si trova per il 98% legato alle proteine plasmatiche, prevalentemente alla globulina legante il testosterone (SHBG) e in misura minore ad albumina e transcortina. Dal sistema leydighiano vengono prodotti in misura minore anche androstenedione e deidroepiandrosterone, mentre il diidrotestosterone (DHT), forma biologicamente più attiva, deriva per la maggior parte della conversione periferica del testosterone ad opera dell'enzima 5 α -reduttasi presente a livello dei tessuti bersaglio.

Anche gli estrogeni svolgono un ruolo fondamentale nella funzione sessuale maschile: questi sono infatti essenziali per modulare la libido, la funzione erettile e la produzione spermatica. Nell'uomo gli estrogeni sono prodotti per il 10% dal testicolo, il resto deriva principalmente dalla conversione del testosterone in estrogeni che avviene a livello del fegato e del tessuto adiposo a opera dell'enzima aromatasi. Con l'avanzare dell'età, soprattutto in caso di ridotta attività fisica e sovrappeso, si assiste a un naturale declino nella produzione di testosterone con un aumento parallelo della sua conversione in estrogeni. Tale fenomeno si può associare a effetti collaterali come ginecomastia, calo del desiderio sessuale, disfunzione erettile e infertilità.

1.4 Varicocele e infertilità

Il varicocele rappresenta una delle patologie più frequentemente implicate nelle alterazioni del liquido seminale del paziente infertile, con comparsa di oligozoospermia, astenozoospermia e teratozoospermia più o meno severe. Tuttavia molti pazienti portatori di varicocele non presentano alterazioni della spermatogenesi e sono fertili. Non esistono quadri seminali caratteristici di varicocele e i diversi parametri seminali (concentrazione, motilità, morfologia) possono presentare alterazioni di grado variabile o risultare nei limiti di norma.

Il varicocele è anche una causa frequente di ipogonadismo, in quanto può causare deterioramento del quadro spermatico, progressiva ipotrofia testicolare e, nel soggetto anziano in particolar modo, una riduzione relativa dei livelli ematici di testosterone derivante dalla disfunzione del compartimento leydigiano. (18)

1.4.1 Meccanismi patogenetici nel testicolo con varicocele

La correlazione tra varicocele e danno testicolare è nota da molto tempo, ma ad oggi non è ancora chiara la natura di tale associazione: benché sia ormai accettato dalla comunità scientifica che il varicocele può, in alcuni pazienti predisposti, provocare un danno progressivo a livello dei tubuli seminiferi e dell'interstizio testicolare con alterazioni qualitative e quantitative dei parametri seminali e ormonali, restano tuttora non adeguatamente comprese le modalità di insorgenza del danno testicolare. Di seguito alcune tra le ipotesi più avvalorate che sono state proposte e indagate dalla comunità scientifica.

1.4.1.1 *Aumento della temperatura scrotale*

Come già descritto nei paragrafi precedenti, la localizzazione extra-addominale dei testicoli e il mantenimento di una temperatura di 2-4°C inferiore alla temperatura corporea sono indispensabili per un corretto svolgimento della spermatogenesi e della funzione endocrina della gonade maschile. Molti autori hanno mostrato che un aumento della temperatura scrotale di soli 1-1.5°C, se prolungato nel tempo, è sufficiente per indurre l'apoptosi delle cellule germinali e una riduzione del volume testicolare con conseguente alterazione quantitativa e qualitativa della produzione spermatica. (19, 20)

Uno studio di Garolla et al (2015) ha reclutato 40 pazienti con varicocele sinistro di III-IV grado Sarteschi (età media 29.4 ± 9.4 anni) e 20 pazienti sani senza varicocele (età media 34.2 ± 8.6 anni). La concentrazione e il numero totale di spermatozoi sono risultati significativamente inferiori nei pazienti con varicocele rispetto ai controlli. I pazienti con varicocele mostravano anche una maggiore percentuale di spermatozoi con alterazioni morfologiche e aneuploidie rispetto ai controlli. Nonostante i valori di FSH, LH e testosterone fossero nei limiti di norma in entrambi i gruppi, nei pazienti con varicocele i livelli di FSH sono risultati significativamente aumentati rispetto ai controlli. Nessuna differenza è stata riscontrata nei livelli di LH e testosterone (21, Tabella 4)

	Conta spermatICA (milioni)	Motilità (PR+NP)	Morfologia normale (%)	Aneuploidie spermatiche (%)	FSH (U/l)	LH (U/l)	T (nmol/l)
Controlli (n=20)	160.5±51.8	53.6±14.9	16.37±8.9	0.6±0.2	1.9±1.3	3.0±0.9	15.6±2.4
Pazienti varicocele (n=40)	87.3±57.9*	39.6±12.7*	11.5±7**	0.73±0.1***	5.3±2.1*	4.7±2.5	16.6±3.1

*p-value $\leq 0,001$ rispetto alla popolazione di controllo

*p-value $\leq 0,05$ rispetto alla popolazione di controllo

*p-value $\leq 0,01$ rispetto alla popolazione di controllo

Tabella 4. Parametri seminali, aneuploidie e ormoni nei pazienti con varicocele e nei controlli

Il monitoraggio della temperatura scrotale delle 24h ha mostrato valori medi a sinistra significativamente maggiori nei pazienti con varicocele sia normozoospermici (VN) che oligozoospermici (VO) rispetto ai controlli. Al contrario, i valori medi a destra sono risultati incrementati in modo significativo solo nei soggetti con varicocele e ridotta conta spermatica totale. (Figura 7)

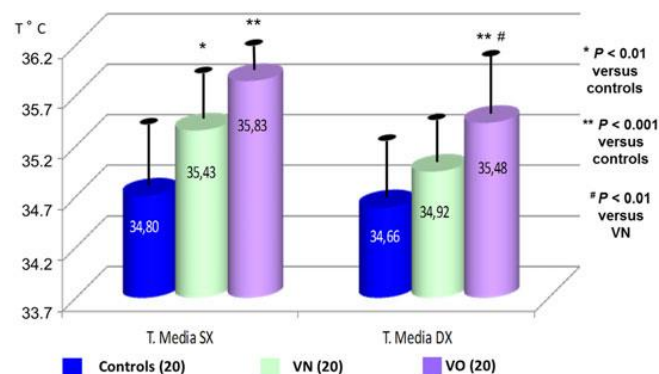


Figura 7. Temperatura scrotale media nei controlli e nei pazienti con varicocele normo- e oligozoospermici

Un altro aspetto importante da considerare è che la temperatura scrotale non è costante durante la giornata, ma si modifica in base ai ritmi circadiani e alle attività svolte dal soggetto. Infatti, in condizioni fisiologiche essa risulta essere maggiore durante le ore notturne e le attività sedentarie rispetto alle ore diurne e alle attività che richiedono movimento. Lo studio ha evidenziato come questa variabilità della temperatura durante la giornata fosse significativamente ridotta nei pazienti con varicocele rispetto ai controlli. (Figura 8)

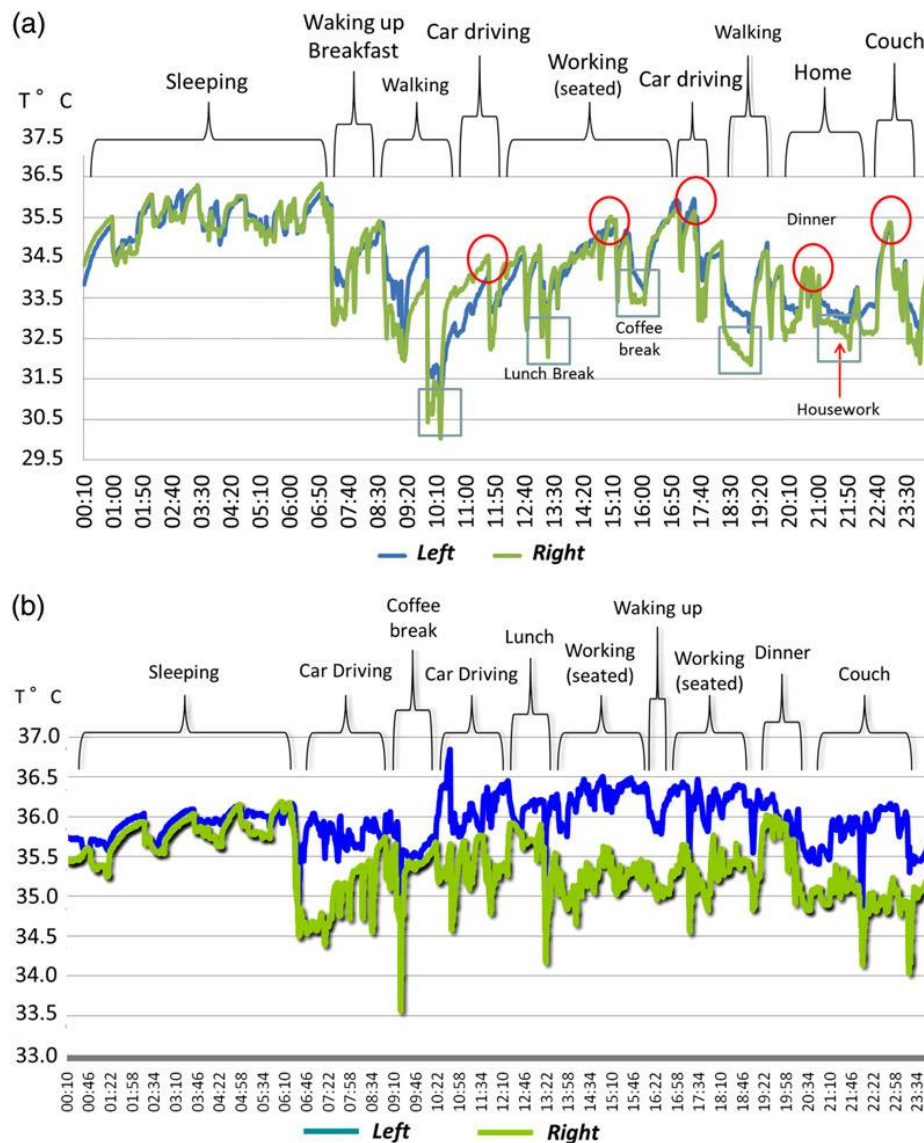


Figura 8. Monitoraggio 24h della temperatura scrotale nei controlli (a) e nei pazienti con varicocele (b)

1.4.1.2 Ipossia tissutale testicolare

L'equazione di Starling stabilisce che il movimento di un liquido attraverso la parete di un capillare è determinato dalla pressione netta attraverso la parete, che è data dalla somma delle pressioni idrauliche ed oncotiche. (Figura 9)

$$J_v = K_f [(P_c - P_i) - (p_c - p_i)]$$

J_v = movimento del liquido (ml/min)
 K_f = conduttanza idraulica (ml/min mmHg)
 P_c = pressione idraulica del capillare (mmHg)
 P_i = pressione idraulica interstiziale (mmHg)
 p_c = pressione oncotica del capillare (mmHg)
 p_i = pressione oncotica interstiziale (mmHg)

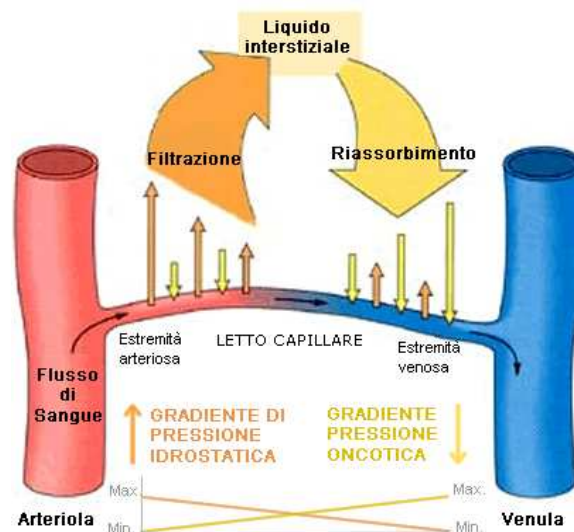


Figura 9. Legge di Starling di distribuzione dei liquidi tra plasma e liquidi interstiziali

Studi su modelli animali hanno documentato un aumento delle concentrazioni intratesticolari di VEGF (vascular endothelial growth factor) e HIF-1 α nei ratti con varicocele. Questi dati sosterranno l'ipotesi che il reflusso ematico nel sistema venoso testicolare sia associato a ipossia tissutale e attivazione del processo di angiogenesi. (22)

Studi successivi hanno evidenziato un'alterazione della fluidodinamica testicolare e un aumento della permeabilità vascolare. L'aumento della pressione idrostatica, secondario alla stasi ematica nel plesso pampiniforme, e l'imaturità della microcircolazione neoformata su stimolo dei fattori di crescita angiogenetici favoriscono la fuoriuscita di liquidi nello spazio extracellulare con la formazione di edema testicolare. (23, 24, 25)

1.4.1.3 Ipotesi dello stress ossidativo

Lo stress ossidativo si riferisce a uno squilibrio tra radicali liberi e antiossidanti. In generale, l'organismo è in grado di mantenere un equilibrio tra antiossidanti e radicali liberi. In quantità normali, infatti, i radicali liberi assolvono a diverse funzioni fisiologiche, ma a livelli più alti possono essere dannosi per il nostro organismo, danneggiando cellule e tessuti. Nel nostro caso specifico, lo stress ossidativo può inficiare la spermatogenesi alterando la morfologia e danneggiando il DNA degli spermatozoi, con una riduzione della capacità fecondante. (26, Figura 10)

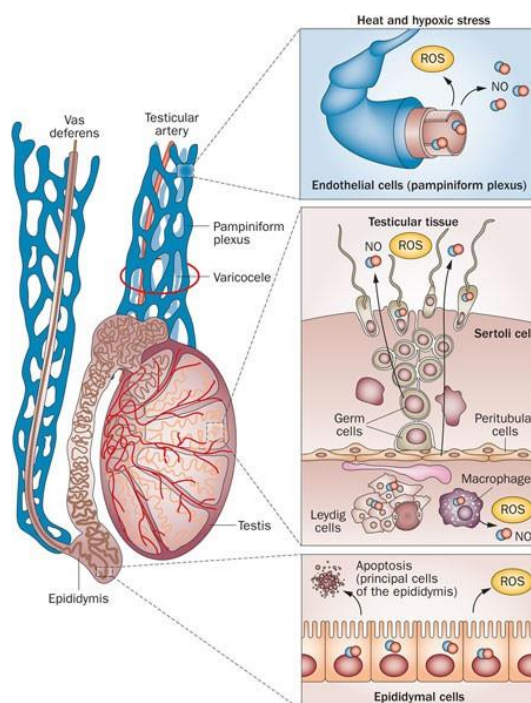


Figura 10. Effetto dello stress ossidativo sul processo di spermatogenesi nel varicocele

Hendin et al (27) hanno osservato un aumento delle concentrazioni di specie reattive dell'ossigeno e una riduzione delle difese antiossidanti nel testicolo affetto da varicocele. Uno studio successivo di Nallella et al (28) ha confermato questa ipotesi mostrando elevati livelli di IL-6 e specie reattive dell'ossigeno nei pazienti con varicocele. Ancora, Yesilli et al (29) hanno osservato un incremento dei livelli di malondialdeide spermatica² nei pazienti infertili con varicocele rispetto ai controlli.

² Il ruolo della malondialdeide (MDA) è quello di segnalare la fase finale delle reazioni innescate dalle specie reattive dell'ossigeno. La malondialdeide infatti deriva dalla lipo-perossidazione dei lipidi di membrana. I lipidi ossidati danneggiano la struttura delle membrane cellulari favorendo l'aumento dell'acido arachidonico (acido grasso polinsaturo), con attività pro-infiammatoria. L'ossidazione può interessare anche i lipidi circolanti con ripercussioni negative sulla crescita della placca aterosclerotica. La presenza di MDA indica quindi che il processo di ossidazione dei lipidi è avvenuto; le barriere antiossidanti sono dunque superate e di conseguenza il danno si è verificato.

Queste alterazioni del microambiente testicolare potrebbero concorrere alle anomalie spermatiche e all'infertilità spesso riscontrata in questi pazienti. Agarwal et al (30) hanno sostenuto l'ipotesi che il danno indotto dallo stress ossidativo sia uno dei principali meccanismi attraverso cui il varicocele impatta negativamente sul processo di spermatogenesi.

1.4.1.4 *Altre ipotesi*

Cohen et al (31) hanno suggerito che un flusso retrogrado in vena testicolare di sangue contenente catecolammine surrenaliche possa risultare in un danno al processo di spermatogenesi. Uno studio successivo di Ito et al (32) ha evidenziato un incremento delle concentrazioni di prostaglandina E e prostaglandina F nel sistema venoso testicolare nei pazienti con varicocele. Studi successivi non hanno tuttavia confermato queste ipotesi in modo univoco e non c'è unanimità nel riconoscere il reflusso ematico retrogrado di metaboliti renali o surrenali in vena testicolare sinistra come un aspetto rilevante nella patogenesi del varicocele.

Altri studi hanno riportato livelli elevati di cadmio nei campioni bioptici testicolari di pazienti infertili con varicocele: questi valori erano inversamente correlati con l'incremento nelle concentrazioni spermatiche dopo varicocelectomia. Lo stesso gruppo ha osservato una correlazione tra la presenza di delezioni nell'mRNA codificante per la subunità $\alpha 1$ dei canali del calcio L-type, il contenuto intratesticolare di cadmio e l'apoptosi delle cellule germinali nei pazienti infertili con varicocele. (33, 34)

1.4.2 Effetti del varicocele sulla spermatogenesi

In un sottogruppo di pazienti con diagnosi di varicocele, i meccanismi fisiopatologici precedentemente descritti (aumento della temperatura scrotale, ipossia tissutale intratesticolare, impairment dell'equilibrio ossidativo) si suppone possano compromettere il processo di spermatogenesi e diminuire il potenziale di fertilità. Si analizzano di seguito i dati raccolti da una recente metanalisi e riguardanti l'effetto negativo del varicocele sui parametri seminali, in accordo con i criteri WHO 2010. (35)

Otto studi hanno mostrato una ridotta concentrazione spermatica con valori compresi nel range 9,62-96,6 milioni/ml, nei pazienti infertili con varicocele e valori compresi nel range 64,98-124,05 milioni/ml nella popolazione controllo ($p \leq 0.001$). (Figura 11)

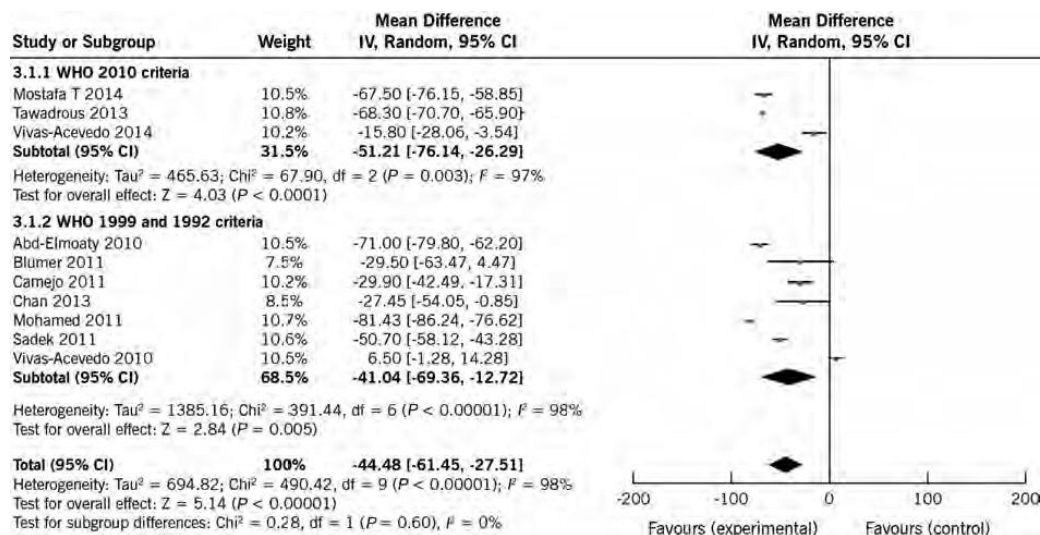


Figura 11. Forest plot sull'effetto del varicocele sulla concentrazione spermatica

Nove studi hanno mostrato una riduzione della motilità spermatica nei pazienti infertili con varicocele rispetto ai controlli, con range di valori rispettivamente di 21,1%-61,9% e 49,3%-70,0% ($p \leq 0.001$). (Figura 12)

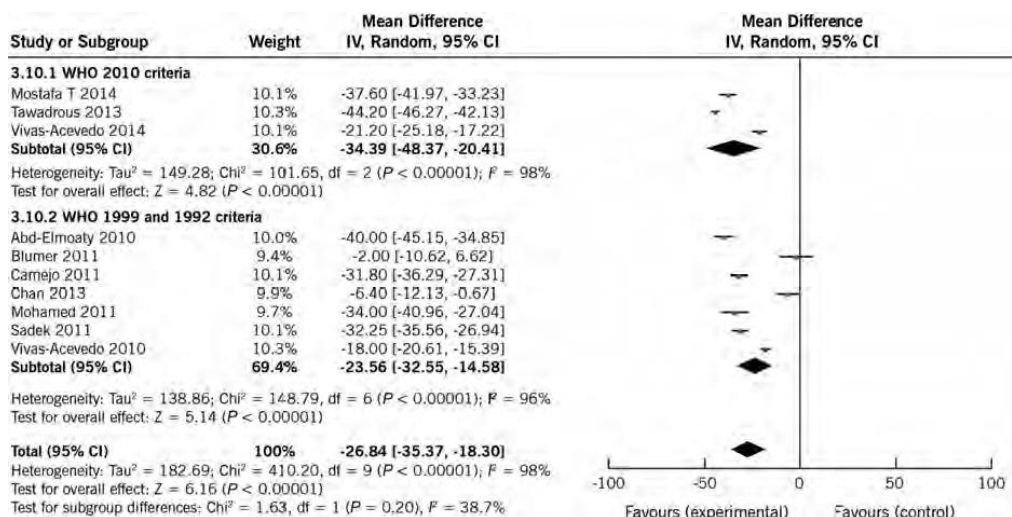


Figura 12. Forest plot sull'effetto del varicocele sulla motilità spermatica

Otto studi hanno individuato il varicocele come fattore di rischio per un'alterata morfologia spermatica con una riduzione della percentuale delle forme tipiche del 19,68% ($p \leq 0.0001$). Una recente metanalisi da autori cinesi (36) ha indagato anche il rapporto tra varicocele e danno al DNA spermatico valutato tramite l'indice di frammentazione del DNA (DFI). I dodici studi analizzati hanno evidenziato un aumento statisticamente significativo del DFI nei pazienti con varicocele rispetto alla popolazione controllo ($p \leq 0.0001$). (Figura 13)

Tutte le alterazioni dei parametri seminali descritte concorrono quindi alla riduzione del potenziale di fertilità.

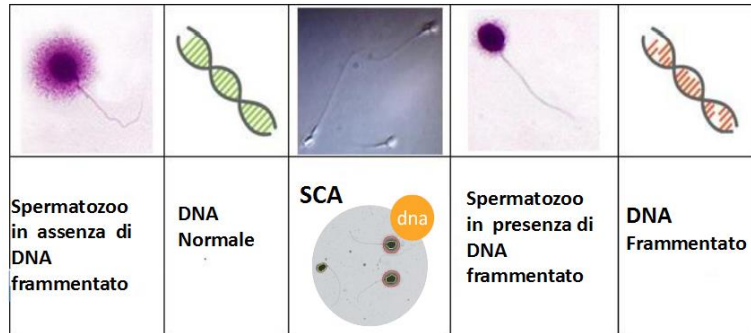


Figura 13. Studio della frammentazione del DNA spermatico

1.4.3 Effetti del varicocele sulla funzione endocrina del testicolo

Se la correlazione tra varicocele e spermatogenesi è stata oggetto di interesse della comunità scientifica già dal secolo scorso, il rapporto tra varicocele e le alterazioni dell'assetto ormonale non è invece stato ancora indagato in maniera esaustiva. I risultati disponibili in letteratura riguardo all'effetto negativo del varicocele sulla produzione di testosterone, LH, FSH e altri ormoni dell'assetto ipotalamo-ipofisi-testicolo sono spesso contraddittori. (37)

Alcuni studi hanno indagato l'effetto negativo dell'aumento di temperatura sulla sintesi di testosterone da parte delle cellule di Leydig e sulla funzione secretoria delle cellule del Sertoli. Rajfer et al (38) hanno dimostrato una riduzione della concentrazione di testosterone intratesticolare nel modello animale associata a un difetto funzionale dell'enzima 17,20-desmolasi. I dati sulle concentrazioni sieriche di testosterone nell'uomo mostrano nella maggiorparte dei casi valori compresi nei limiti di norma, con tuttavia un aumento significativo del testosterone circolante nei pazienti sottoposti a correzione chirurgica del varicocele rispetto ai valori pre-operatori. (39) In alcuni studi è stata osservata una riduzione della produzione di testosterone secondaria all'inibizione degli enzimi 17α -idrossilasi e 17,20-liasi coinvolti nel processo di steroidogenesi. (40, 41, Figura 14)

Ci sono evidenze di una riduzione delle concentrazioni di diidrotestosterone (DHT) nei pazienti con varicocele, condizione che si potrebbe spiegare con una ridotta attività dell'enzima α -reduktasi epididimale. (42, 43) Valori medi inferiori alla norma di ormone anti-mulleriano (AMH) e inibina B sono riportati in molti studi e sono da considerare il risultato di un impairment della funzione secretoria delle cellule del Sertoli e del processo di spermatogenesi (44, 45, Figura 15)

Riguardo all'asse ipotalamo-ipofisi-testicolare, nello studio di Garolla et al già citato (21) sono stati valutati 40 pazienti con varicocele sinistro e 20 pazienti controllo. I valori di LH e FSH rientravano nei limiti di norma, ma le concentrazioni di FSH sono risultate significativamente superiori nei pazienti con varicocele rispetto ai pazienti sani. Altri studi hanno dimostrato un aumento significativo dei valori di LH e FSH post-operatori nei pazienti sottoposti a correzione chirurgica del varicocele. Portiamo ad esempio la metanalisi di Tian et al già citata (45), che ha preso in esame 312 pazienti sottoposti a varicocelectomia con approccio sub-inguinale o microchirurgico. Nel post-operatorio si sono osservate una riduzione media dei valori sierici di FSH compresa nel range 0,1-4,8 ng/dl ($p \leq 0.001$) e una riduzione media dei valori sierici di LH compresa nel range 0,2-2,1 ng/dl ($p \leq 0.0005$).

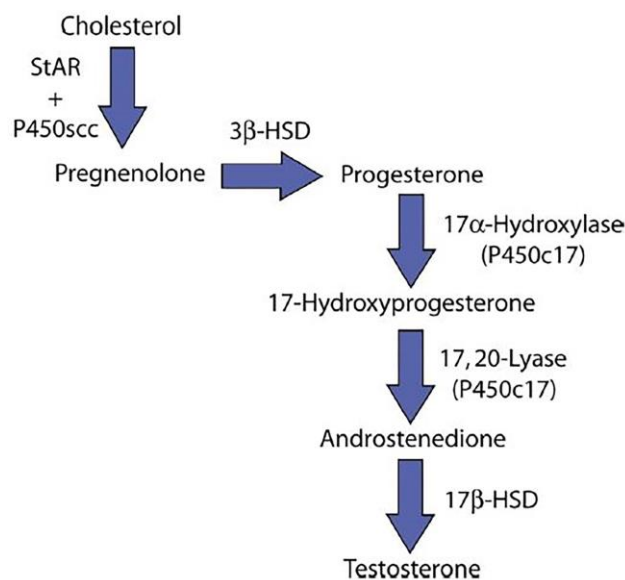


Figura 14. Sintesi del testosterone ed enzimi coinvolti

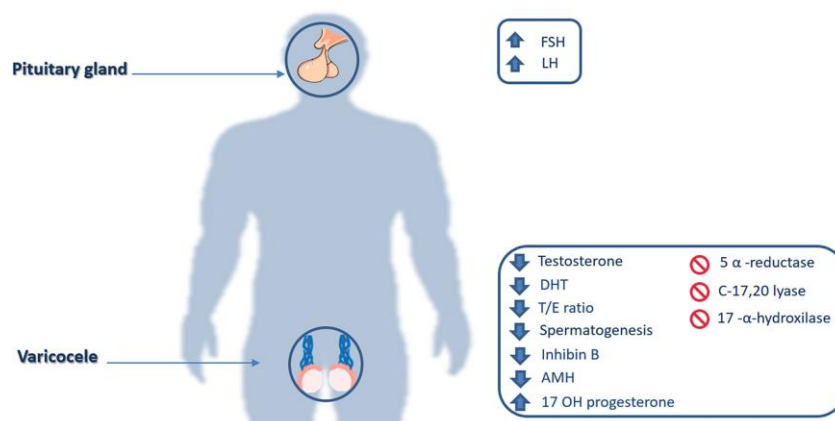


Figura 15. Alterazioni enzimatiche e ormonali nei pazienti con varicocele

1.5 Diagnosi di varicocele

1.5.1 Visita andrologica ed esame obiettivo

Il varicocele può essere individuato attraverso l'esame clinico o con la valutazione EcoColorDoppler. Poiché il varicocele è asintomatico nella maggior parte dei soggetti, la diagnosi risulta generalmente secondaria ad approfondimenti relativi all'infertilità di coppia o durante visite mediche effettuate per altri motivi. Saltuariamente il sospetto sorge al paziente stesso tramite autopalpazione. Più raramente ($\leq 5\%$ dei casi) il paziente riferisce una sintomatologia aspecifica comprendente senso di peso o algie scrotali, solitamente accentuati dalla permanenza in ortostatismo o dall'attività sportiva prolungata, e che tendono a regredire con il riposo o il clinostatismo.

Parametro morfologico importante che può orientare la gestione clinica del paziente con varicocele è il volume testicolare. Durante la preadolescenza infatti, il volume testicolare rimane costante, mentre con l'inizio della pubertà si assiste a un rapido incremento della volumetria testicolare che anticipa i cambiamenti fenotipici caratteristici di questa età. Nell'adolescente, la rapida crescita volumetrica dei testicoli in età compresa tra gli 11 e i 16 anni può essere influenzata negativamente dalla presenza del varicocele determinando un'asimmetria tra le due gonadi. Il volume testicolare deve quindi essere sempre valutato durante la visita ambulatoriale mediante l'utilizzo di un orchidometro di Prader o mediante ecografia scrotale.

L'esame obiettivo deve essere svolto in clinostatismo, per valutare la posizione e le dimensioni delle gonadi e successivamente in ortostatismo a riposo e durante manovra del Valsalva per riuscire a rilevare anche varicoceli di piccole dimensioni. Il varicocele viene apprezzato come un plesso di vene, con consistenza analoga a una "sacca di vermi", adiacente al testicolo che tende a decompimersi con il clinostatismo. Sulla base dell'esame obiettivo il varicocele viene graduato mediante la classificazione di Dubin e Amelar in:

- Grado 0: Varicocele subclinico, non rilevabile mediante esame obiettivo ma rilevato mediante esame ecografico o venografico
- Grado I: Varicocele piccolo, rilevabile solamente durante manovra di Valsalva in ortostatismo
- Grado II: Varicocele moderato, rilevabile anche senza manovra di Valsalva
- Grado III: Varicocele voluminoso, rilevabile anche all'ispezione scrotale

1.5.2 Ecocolordoppler scrotale

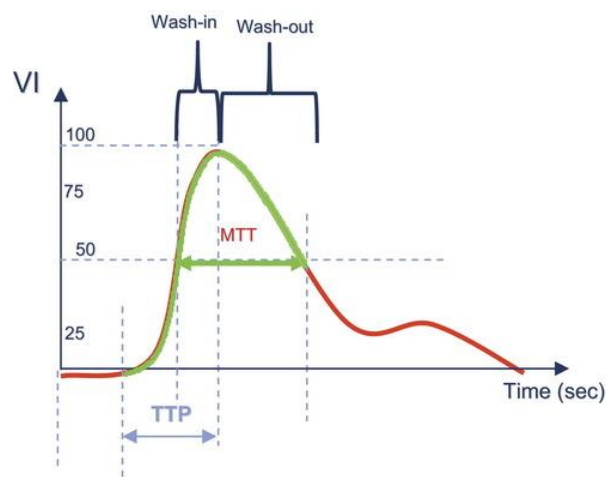
La valutazione EcoColorDoppler scrotale del soggetto infertile affetto da varicocele deve prevedere la valutazione di volumetria, ecostruttura e vascolarizzazione del parenchima testicolare ed epididimale, la presenza di ectasie venose, di reflussi venosi patologici e la loro estensione. L'indagine viene effettuata dapprima in clinostatismo e successivamente in ortostatismo. La valutazione permette di rilevare la presenza di vasi venosi ectasici (diametro $\geq 3\text{mm}$) lungo il canale inguinale o all'interno della sacca scrotale, mentre l'indagine ecocolordoppler fornisce informazioni sulla presenza o assenza di un reflusso, e se quest'ultimo è presente in condizioni basali e/o dopo aumento della pressione endoaddominale (manovra di Valsalva). La classificazione ecografica più frequentemente utilizzata per la definizione del varicocele e la sua influenza sulla fertilità, è quella introdotta da Sarteschi et al (46):

- Grado I: non si osservano varicosità. L'ecocolordoppler, con sonda posizionata all'emergenza scrotale, evidenzia un prolungato reflusso venoso.
- Grado II: si osservano piccole varicosità posteriori, spesso accompagnate da un tronco venoso rettilineo ventrale, che però non scendono al di sotto del livello del polo superiore del testicolo. Le varicosità incrementano di diametro in maniera più o meno apprezzabile con la manovra di Valsalva. Lo studio con ecocolordoppler rivela la presenza di reflusso venoso nella regione sovratesticolare.
- Grado III: in ortostatismo i vasi venosi si dilatano prontamente durante manovra di Valsalva, raggiungendo il polo inferiore del testicolo. L'ecocolordoppler non evidenzia reflusso in condizioni basali ma dimostra reflussi prolungati con manovra di Valsalva.
- Grado IV: i vasi venosi del funicolo appaiono dilatati a livello funicolare peritesticolare; la manovra di Valsalva determina un ulteriore allargamento dei calibri venosi. Lo studio ECD documenta presenza di reflussi patologici già in condizioni basali, incrementabili durante manovra di Valsalva. Spesso può essere presente ipotrofia del testicolo omolaterale.
- Grado V: i vasi venosi appaiono estremamente dilatati a livello funicolare e peritesticolare, talvolta in maniera abnorme. La manovra di Valsalva determina aumento del calibro venoso. L'ecocolordoppler dimostra un reflusso patologico presente in condizioni basali che comunque non incrementa o incrementa pochissimo durante l'esecuzione delle manovre funzionali. Talvolta possono essere presenti varici intratesticolari. Può, inoltre, coesistere ipotrofia del testicolo omolaterale.

1.5.3 Ecografia scrotale con mezzo di contrasto e studio di perfusione

Un'ulteriore tecnica di imaging utile per valutare le alterazioni della perfusione del microcircolo intratesticolare nei pazienti con varicocele è rappresentata dall'ecografia scrotale con mezzo di contrasto, che fornisce importanti informazioni aggiuntive rispetto alle metodiche diagnostiche classiche. L'esame consiste nell'iniezione in vena antecubitale di 2,5 ml di mezzo di contrasto contenente microbolle di esafluoruro di zolfo stabilizzate con fosfolipidi, subito seguita da una rapida infusione di soluzione NaCl 0,9%. Successivamente alla somministrazione del mezzo di contrasto vengono valutati ecograficamente i seguenti parametri (Figura 16):

- Time to peak (TTP): tempo che impiega il mezzo di contrasto a raggiungere la concentrazione massima nella circolazione arteriolare del testicolo.
- Mean transit time (MTT): tempo medio di transito del mezzo di contrasto nel testicolo.
- Tempo di wash-in: tempo che il mezzo di contrasto impiega per raggiungere la circolazione arteriolare del testicolo.
- Tempo di wash-out: tempo che il mezzo di contrasto impiega per raggiungere la circolazione venulare del testicolo.



**Figura 16: Curva di perfusione scrotale valutata con mezzo di contrasto.
VI: intensità video del segnale**

Uno studio di Caretta et al (47) ha utilizzato l'ecografia scrotale con mezzo di contrasto per valutare l'effetto delle alterazioni del microcircolo testicolare sulla spermatogenesi nei pazienti con varicocele sinistro. Lo studio ha evidenziato parametri di perfusione significativamente aumentati nei pazienti con varicocele e oligozoospermia rispetto sia ai pazienti con varicocele e normozoospermia che ai controlli, indipendentemente dal grado di varicocele. Pazienti

normozoospermici con varicocele mostravano un MTT sinistro maggiore rispetto ai controlli, senza differenze statisticamente significative nei tempi di wash-in e wash-out. (Tabella 5)

	CN	CO	VN	VO
<i>MTT (s)</i>				
<i>Sinistro</i>	28,9 ± 4,7	40,5 ± 9,6*	34,8 ± 9,4*	41,9 ± 8,2**
<i>Destro</i>	27,8 ± 5,0	31,1 ± 9,5	30,9 ± 6,9	37,8 ± 11,01**
<i>TTP (s)</i>				
<i>Sinistro</i>	15,5 ± 2,7	22,2 ± 4,8*	17,9 ± 6,0	21,5 ± 6,7**
<i>Destro</i>	15,0 ± 3,5	24,0 ± 13,2*	17,9 ± 6,7	19,3 ± 7,9*
<i>Wash-in (s)</i>				
<i>Sinistro</i>	9,4 ± 2,2	15,4 ± 4,6*	11,3 ± 5,3	13,0 ± 4,5*
<i>Destro</i>	8,0 ± 1,9	12,7 ± 5,4*	9,3 ± 2,4	11,1 ± 4,7*
<i>Wash-out (s)</i>				
<i>Sinistro</i>	20,5 ± 4,7	23,3 ± 6,6	23,7 ± 7,7	29,0 ± 6,4**
<i>Destro</i>	19,8 ± 4,6	21,5 ± 9,5	21,6 ± 6,2	26,4 ± 8,1**

Legenda: CN: controlli normozoospermici, CO: controlli oligozoospermici, VN: varicocele normozoospermici, VO: varicocele oligozoospermici

*p-value ≤ 0,05 rispetto ai controlli normozoospermici

**p-value ≤ 0,05 rispetto ai pazienti e ai controlli normozoospermici

Tabella 5. Tempi di perfusione misurati con ecografia scrotale con mezzo di contrasto (47)

Nei pazienti con varicocele è stata inoltre riscontrata una correlazione lineare negativa tra la conta spermatica totale e il parametro MTT sinistro. (Figura 17) In particolare i pazienti con MTT sinistro ≥ 36s mostravano un aumento della prevalenza di oligozoospermia. Il valore di MTT sinistro è stato l'unico parametro predittivo indipendente di oligozoospermia, con una sensibilità e una specificità rispettivamente del 78% e del 58% per valori ≥ 36s.

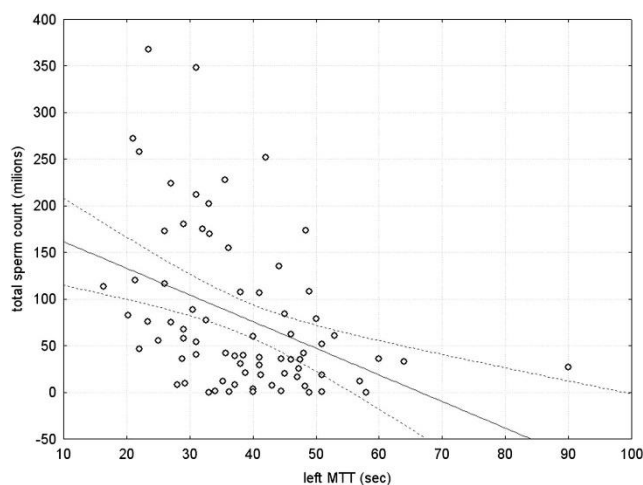


Figura 17. Correlazione lineare negativa tra MTT sinistro e conta spermatica totale

1.6 Opzioni terapeutiche del varicocele

1.6.1 Criteri di eleggibilità alla terapia invasiva del varicocele

Le linee guida del 2014 dell'*American Society for Reproductive Medicine* (48) e della *European Association of Urology* (49, 50) individuano come indicazione al trattamento del varicocele almeno una delle seguenti condizioni:

1. La coppia è in cerca di prole con storia nota di infertilità di durata uguale o superiore a 2 anni; la partner non presenta fattori maggiori di infertilità o presenta cause di infertilità potenzialmente correggibili
2. Alterazione dei parametri seminali e/o dei parametri ormonali
3. Riduzione del volume testicolare del 20% rispetto al testicolo controlaterale, valutato all'esame ecografico
4. Varicocele sintomatico (es. senso di pesantezza o dolore testicolare)

Studi controllati e randomizzati non hanno mostrato effetti benefici sul potenziale di fertilità nei pazienti con varicocele subclinico sottoposti a correzione chirurgica (51, 52, 53). Inoltre, i pazienti con varicocele e parametri seminali nei limiti di norma non sembrerebbero trarre un beneficio significativo dal trattamento invasivo rispetto ai controlli. (54, 55)

1.6.2 Terapia chirurgica

I primi tentativi di correzione del varicocele risalgono alla prima metà del XIX secolo. In tale periodo l'indicazione all'intervento era dettata soprattutto da motivazioni di natura estetica. Negli anni successivi l'obiettivo del trattamento cominciò a essere rappresentato dall'occlusione o dall'asportazione delle vene ectasiche del plesso pampiniforme. La fase pionieristica del trattamento del varicocele può considerarsi conclusa intorno al 1918 quando Ivanissevich e Gregoriani proposero l'interruzione delle vene spermatiche interne nel loro decorso inguinale. Nel 1949 Palomo propose per primo di realizzare una legatura delle vene spermatiche interne al di sopra del canale inguinale. Gli interventi chirurgici che prevedono la legatura delle vene spermatiche interne al di sopra del canale inguinale vengono preferibilmente eseguiti in anestesia generale o spinale.

1.6.2.1 *Legatura sovra-inguinale retro-peritoneale (tecnica di Ivanissevich)*

La tecnica di Ivanissevich prevede un'incisione chirurgica di circa 4-5 cm che può essere condotta circa 2 cm al di sopra della spina iliaca antero-superiore in direzione della linea alba o verso il basso in direzione del tubercolo pubico. L'intervento prevede la dissociazione dei piani sottocutanei, la divaricazione del piano muscolare e l'accesso allo spazio retroperitoneale, dove si procede all'identificazione del fascio vascolare spermatico. Le vene spermatiche principali e i loro rami collaterali vengono singolarmente legate e sezionate al fine di interrompere il reflusso venoso, con attenzione all'isolamento e alla preservazione dell'arteria testicolare. (Figura 18, 56)

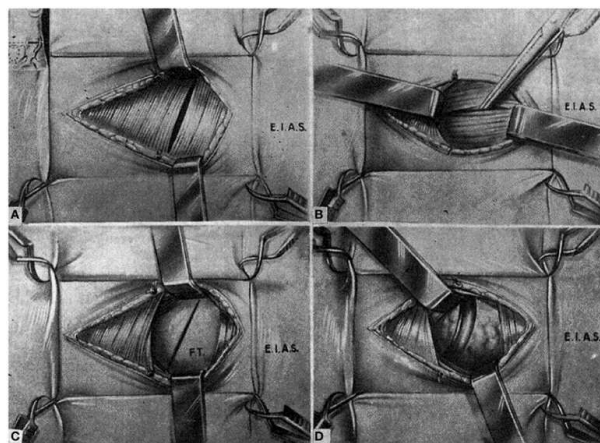


Figura 18. Legatura sovra-inguinale retroperitoneale secondo la tecnica di Ivanissevich (1918)

1.6.2.2 *Legatura sovra-inguinale retro-peritoneale (tecnica di Palomo)*

La tecnica di Palomo si prefigge l'obiettivo di realizzare un'interruzione delle vene spermatiche interne a livello retroperitoneale a un livello più alto rispetto alla tecnica di Ivanissevich, seppur con tempi di accesso al retroperitoneo sostanzialmente sovrapponibili. L'intervento richiede un'incisione chirurgica 4-5 cm al di sopra della spina iliaca antero-superiore. La tecnica di Palomo nella sua descrizione classica prevede la legatura in blocco sia della componente arteriosa che di quella venosa; una modifica della tecnica originale prevede la preservazione della arteria spermatica analogamente alla tecnica di Ivanissevich.

Secondo i dati di letteratura, le tecniche di legatura sovra-inguinale retroperitoneale delle vene spermatiche sono associate a un tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento del 37,7%. Questa tecnica ha inoltre un'incidenza di varicocele recidivo del 15,0%, specialmente nei casi in cui si preservi l'arteria testicolare. Dati di metanalisi hanno dimostrato un tasso di formazione di idrocele post-operatorio dell'8,2% (57), risultato della difficoltà nell'identificare e preservare i vasi linfatici con la tecnica di Palomo. (58)

1.6.2.3 Microchirurgia con accesso sub-inguinale o scrotale

Il trattamento microchirurgico del varicocele è stato proposto per la prima volta negli anni 1970, si è andato implementando negli anni 1980 e ha raggiunto uno status di intervento standardizzato negli anni 1990. La tecnica oggi più utilizzata è la legatura microchirurgica delle vene spermatiche secondo Goldstein. (Figura 19) Tale tecnica prevede una piccola incisione cutanea al di sotto dell'anello inguinale esterno e, mediante ingrandimento ottico e doppler intraoperatorio, permette la più accurata dissezione degli elementi del funicolo spermatico con isolamento e preservazione del deferente, delle arterie testicolari, dei vasi linfatici e delle vene costituenti il plesso venoso testicolare che verranno successivamente clampate e sezionate. A differenza delle tecniche di legatura alta, tale approccio può essere eseguito in anestesia locale con minime complicanze post-operatorie.

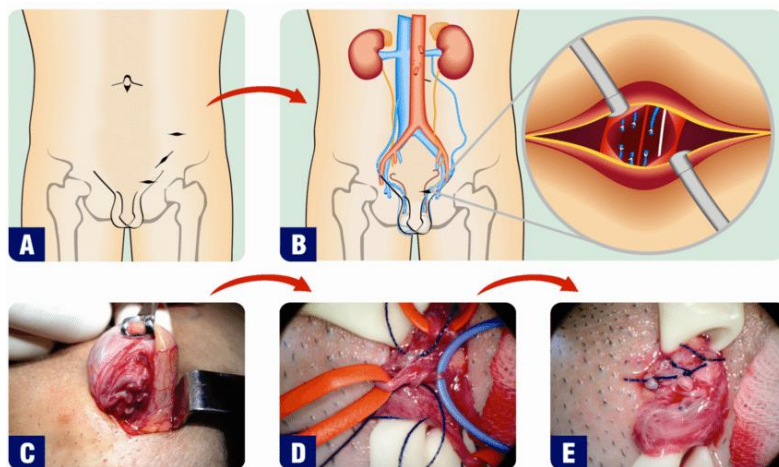


Figura 19. Trattamento microchirurgico del varicocele con accesso sub-inguinale. A) Sedi di incisione comunemente utilizzati per le tecniche sovra-inguinale, inguinale e sub-inguinale. B) Nell'approccio sub-inguinale si effettua un'incisione trasversale al di sotto dell'anello inguinale esterno. C-E) Immagini intraoperatorie di una varicocelectomia microchirurgica

Dati di metanalisi hanno mostrato un tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento del 42.0%, un rischio di varicocele recidivo dell'1,1% e un tasso di formazione di idrocele post-operatorio dello 0,4%, grazie alla maggiore facilità di isolare e preservare l'arteria spermatica interna e i vasi linfatici rispetto alle tecniche chirurgiche con accesso sovra-inguinale retroperitoneale. (57)

1.6.2.4. *Varicocelectomia con tecnica laparoscopica*

L'approccio chirurgico al varicocele mediante tecnica laparoscopia è stato per molti anni oggetto di studio ed è stato oggi quasi completamente abbandonato. Infatti, tale approccio si associa non solo alla possibilità di danneggiare le arterie testicolari e i vasi linfatici, ma anche a un rischio elevato di danneggiare intestino, vasi sanguigni, nervi. (59) Altri possibili eventi avversi osservati nella pratica chirurgica includono embolia polmonare, sanguinamento, peritonite e dolore postoperatorio, pneumoscroto, infezione e dolore alla spalla legata all'induzione dello pneumoperitoneo e all'iperdistensione del diaframma.

Dai dati disponibili in letteratura, la varicocelectomia con tecnica laparoscopica presenta un tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento del 30.0%, un rischio di varicocele recidivo del 4,3% e un tasso di formazione di idrocele post-operatorio del 2,8%. (57)

1.6.3 *Terapia mininvasiva endovascolare*

Una possibile alternativa al trattamento chirurgico del varicocele che ha trovato sempre maggiore applicazione negli ultimi anni è rappresentata dall'occlusione della vena spermatica interna per via retrograda o anterograda percutanea mediante l'impiego singolo o combinato di agenti sclerosanti o di dispositivi embolizzanti (es. palloncini staccabili, spirali in tungsteno).

1.6.3.1 *Sclerotizzazione anterograda secondo Tauber*

La sclerotizzazione per via anterograda della vena spermatica interna è stata descritta per la prima volta da Tauber nel 1994. Il paziente viene posizionato supino e in lieve anti-Trendelenburg³ (circa 20°) per ridurre il rischio di stimolazione vagale durante le successive manovre di trazione del funicolo spermatico. Si somministrano 7-10 ml di anestetico locale in corrispondenza della radice dello scroto a due dita trasverse dalla base del pene. Si procede successivamente a un'incisione longitudinale di 1,5 cm e alla dissociazione del funicolo spermatico dai piani cutanei. Una vena del plesso pampiniforme anteriore viene incannulata con un catetere venoso da 24 G attraverso il quale si somministrano per via anterograda circa 4 ml di atossisclerolo al 3%. (Figura 20)

³ La posizione di Trendelenburg inversa, anche definita anti-Trendelenburg, è una posizione di decubito, opposta alla posizione di Trendelenburg, che prevede l'inclinazione a 25-30° del letto in modo che la testa e il torace risultino su un piano superiore rispetto a quello dei piedi, a paziente supino.

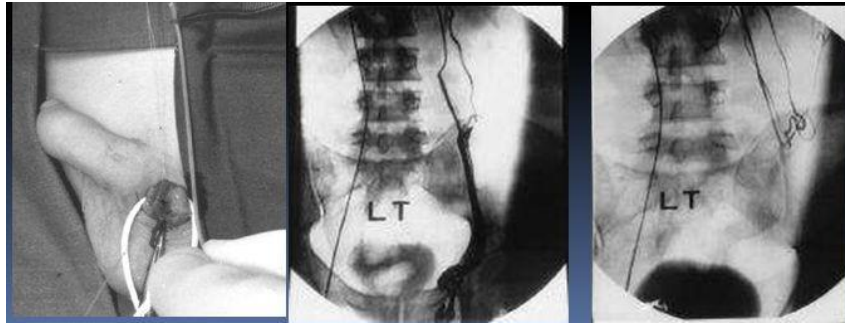


Figura 20. Immagini di un intervento di sclerotizzazione anterograda secondo Taber, con flebografia pre- e post- sclerotizzazione. Si osserva la chiusura del vaso venoso ectasico interessato dal reflusso

1.6.3.2 Sclerotizzazione retrograda con accesso trans-femorale

Questa tecnica prevede l'introduzione in vena femorale di un catetere angiografico (tecnica di Seldinger) che viene fatto avanzare verso la vena cava inferiore e successivamente guidato all'interno della vena renale di sinistra. A tale livello si iniettano 20-30 ml di mezzo di contrasto per confermare la presenza di un reflusso reno-spermatico. Eseguita la flebografia retrograda si procede all'esecuzione di una flebografia selettiva della vena spermatica interna introducendo il catetere angiografico all'interno del vaso. Si iniettano l'agente sclerosante che viene lasciato all'interno del vaso per circa 15 minuti e successivamente aspirato. L'agente sclerosante più frequentemente impiegato è l'atossisclerolo al 3%. (Figura 21)

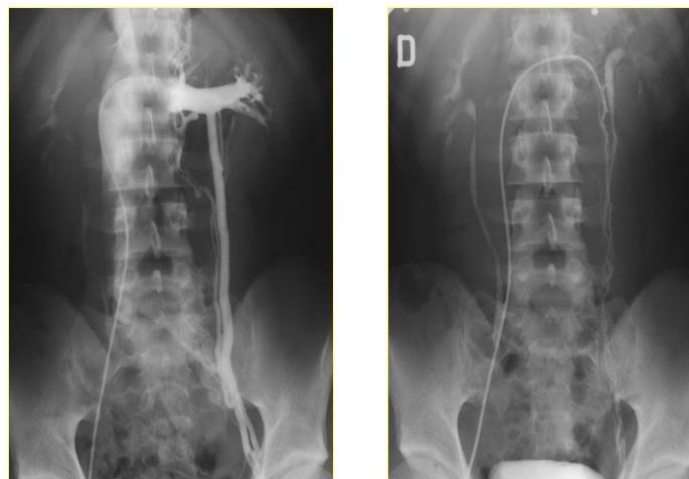


Figura 21. Immagini flebografiche prima e dopo l'intervento di sclerotizzazione retrograda con accesso trans-femorale. Si osserva la chiusura del vaso venoso ectasico interessato dal reflusso

Dati di metanalisi mostrano un tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento di scleroembolizzazione del 33,2% e un rischio di varicocele recidivo del 12,7%, attribuito alla maggiore probabilità di fallimento nell'occlusione delle vene spermatiche esterne e delle piccole vene collaterali. (57)

1.6.4 Confronto fra le diverse opzioni terapeutiche

	Tasso di gravidanza spontanea %	Tasso di recidiva di varicocele %	Tasso di idrocele post-operatorio %
<i>Varicolectomia chirurgica</i>	37,7	15,0	8,2
<i>Varicolectomia laparoscopica</i>	30,0	4,3	2,8
<i>Microchirurgia</i>	42,0	1,1	0,4
<i>Scleroembolizzazione</i>	33,2	12,7	NA

**Tabella 6. Confronto tra le opzioni terapeutiche per il trattamento del varicocele.
NA: non applicabile**

1.6.5 Miglioramento della funzione testicolare dopo terapia invasiva

Nilsson et al (60) non hanno osservato un miglioramento statisticamente significativo dei parametri seminali (concentrazione, motilità progressiva, morfologia) in un gruppo di pazienti sottoposti a chirurgia rispetto ai controlli non operati in un periodo di osservazione di 53 mesi. Al contrario, un successivo studio controllato e randomizzato di Madgar et al ha evidenziato un miglioramento dei parametri seminali e del tasso di fertilità. (61)

Uno studio più recente condotto dal gruppo dell'Università di Modena e Reggio Emilia (62) ha investigato gli effetti della correzione chirurgica del varicocele sui parametri seminali in una coorte di 121 pazienti. Sono stati registrati miglioramenti significativi nella concentrazione spermatica ($p=0.015$) e nella percentuale di spermatozoi mobili totali e mobili progressivi ($p=0.039$ e $p=0.022$), con una diminuzione significativa della percentuale di spermatozoi immobili ($p=0.013$). In particolare la concentrazione spermatica è aumentata nel 71,7% dei pazienti. (Tabella 7) Per quanto riguarda la morfologia cellulare, le anomalie spermatiche della testa (microcefalia, macrocefalia, appendici citoplasmatiche) si sono ridotte in modo significativo. Inoltre, l'intervento di correzione del varicocele ha portato a una riduzione significativa delle anomalie della coda. Infine, è stata osservata anche una riduzione significativa del numero di spermatidi nei campioni seminali dopo la chirurgia. La percentuale di pazienti con miglioramento dei parametri seminali è stata maggiore ($p=0.008$) per i varicoceli di grado I e II (rispettivamente 62,5% e 67,9%) rispetto ai varicoceli di grado III e IV (rispettivamente 49,6% e 50,8%). Il grado di varicocele pre-intervento potrebbe quindi essere considerato un parametro predittivo di miglioramento del processo di spermatogenesi dopo la correzione chirurgica.

	<i>Pre-chirurgia</i>	<i>Post-chirurgia</i>	<i>p-value</i>
<i>Volume seminale (ml)</i>	3,1 ± 1,3	3,0 ± 1,2	0,571
Conc. spermatica (mil/ml)	32,6 ± 30,6	43,9 ± 39,4	0,015
Spermatozoi totali (mil)	99,0 ± 99,5	121,9 ± 113,2	0,115
Motilità progressiva %	39,1 ± 15,5	44,0 ± 17,1	0,022
Motilità non progressiva %	11,8 ± 7,8	10,9 ± 5,6	0,350
Spermatozoi immobili %	49,0 ± 14,6	44,8 ± 16,6	0,039
Motilità totale %	50,7 ± 14,4	55,8 ± 16,8	0,013
Forme tipiche %	2,02 ± 2,1	3,4 ± 12,8	0,275

Tabella 7. Confronto tra i parametri seminali pre- e post- chirurgia

Un altro studio italiano di Mongioi et al (63) ha valutato il miglioramento della funzione testicolare e della spermatogenesi confrontando i pazienti sottoposti a varicocelectomia chirurgica e scleroterapia. I parametri seminali convenzionali non differivano significativamente nei due gruppi prima dell'intervento. Dopo la correzione del varicocele è stato osservato un aumento della concentrazione spermatica, della conta spermatica totale e della motilità in entrambi i gruppi. In particolare, nei pazienti sottoposti a varicocelectomia chirurgica è stato osservato un miglioramento significativo della concentrazione spermatica e della conta spermatica totale, mentre nei pazienti sottoposti a scleroterapia si riscontrava un miglioramento significativo della concentrazione spermatica e della motilità totale e progressiva. Il tasso di gravidanza spontanea è risultato maggiore nei pazienti sottoposti a scleroterapia (28%) rispetto ai pazienti sottoposti a varicocelectomia chirurgica (13%).

E' stato successivamente indagato se, oltre che sulla funzione spermatogenetica, l'intervento di correzione del varicocele avesse un effetto positivo anche sulla funzione endocrina testicolare con un aumento dei livelli di testosterone e una diminuzione dei livelli di gonadotropine. Mansour et al (64) hanno reclutato 100 pazienti con varicocele candidati a terapia invasiva, dividendoli in eugonadici (testosterone ≥ 280 ng/dl) e ipogonadici (testosterone ≤ 280 ng/dl). I valori medi di testosterone prima e dopo la chirurgia nei pazienti ipogonadici era rispettivamente $215,22 \pm 83,31$ ng/dl e $326,95 \pm 35,125$ ng/dl con una differenza statisticamente significativa ($p \leq 0,0001$). Non è stato osservato un aumento dei livelli di FSH, mentre si è verificata una diminuzione significativa dei livelli di LH. Nei pazienti eugonadici la differenza di testosterone, FSH e LH prima e dopo l'intervento non è risultata significativa.

1.6.6 *Terapia farmacologica*

Esiste un significativo divario tra le tecniche di varicocelectomia chirurgica e di scleroembolizzazione, entrambe volte a una risoluzione anatomica della patologia varicosa testicolare. Il trattamento medico del paziente con varicocele è da intendersi riservato a quei casi in cui non vengano soddisfatti i criteri di eleggibilità per un intervento invasivo, ovvero utilizzato come terapia adiuvante post-intervento in quei pazienti che non vanno incontro a un miglioramento spontaneo dei parametri seminali. In questo contesto la terapia farmacologica del varicocele prevede ad oggi l'utilizzo di antinfiammatori, antiedemigeni e antiossidanti, uniti all'eventuale somministrazione di testosterone negli individui ipogonadici.

In particolare, sono disponibili in letteratura numerosi studi che esplorano l'effetto della supplementazione con antiossidanti nei pazienti sottoposti a correzione chirurgica del varicocele. Uno studio cinese del 2018 (65) ha mostrato un miglioramento significativo della concentrazione, della motilità e dell'integrità del DNA spermatico, oltre che dei livelli sierici di FSH, senza tuttavia differenze significative nel pregnancy rate rispetto ai controlli. Una recente metanalisi (66) ha mostrato invece come non vi sia un miglioramento significativo di parametri seminali, dell'integrità del DNA spermatico e del pregnancy rate nei pazienti con varicocele sottoposti a terapia con antiossidanti. La terapia farmacologica del varicocele rimane quindi tuttora oggetto di ricerca.

OBIETTIVO DELLO STUDIO

La correlazione tra varicocele, alterazioni quantitative e qualitative del liquido seminale e infertilità maschile è stata oggetto di studio per molti anni. A partire dagli anni 1980 si sono rese disponibili numerose tecniche chirurgiche per la correzione del reflusso venoso testicolare che differiscono tra loro per outcome, tasso di recidiva e possibili effetti avversi. In assenza di linee guida rimane tuttavia controverso quale sia la procedura migliore da consigliare al paziente nella quotidiana pratica clinica. Inoltre, in base alle conoscenze finora disponibili non è possibile pronosticare l'esito dell'intervento, in termini di recupero della funzione testicolare, in base al grado del varicocele e ai parametri seminali precedenti all'intervento. L'ecografia testicolare con mezzo di contrasto ha dato risultati promettenti nell'individuare una correlazione tra le alterazioni del microcircolo e il deficit di funzione testicolare nel paziente con varicocele, ma mancano ancora dei parametri predittivi di miglioramento dei parametri seminali dopo l'intervento.

L'obiettivo primario di questo studio è analizzare da un punto di vista qualitativo e quantitativo il miglioramento dei parametri seminali, ormonali ed ecografici in seguito a intervento di scleroembolizzazione anterograda e retrograda del varicocele e confrontare il miglioramento della funzione testicolare ottenuto con le due tecniche. Obiettivo secondario è individuare dei possibili parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Popolazione di studio

Si tratta di uno studio retrospettivo osservazionale condotto su 73 soggetti maschi adulti affetti da varicocele. I pazienti sono stati reclutati presso l'Unità di Andrologia e Medicina della Riproduzione dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova, nel periodo compreso da gennaio 2009 a giugno 2023.

I criteri di inclusione erano: età compresa tra i 16 e i 55 anni, varicocele sintomatico, varicocele associato a ipotrofia testicolare omolaterale, varicocele con quadro seminologico alterato che non riconosca altre cause eziologiche, varicocele in coppia con storia nota di infertilità che non riconosca altre cause eziologiche.

I criteri di esclusione erano: età ≤ 16 anni e ≥ 55 anni, altre cause note di infertilità, paziente con esame colturale microbiologico positivo e/o positività seminale a papillomavirus/HIV/HCV/HBV, concomitante trattamento con steroidi sessuali o gonadotropine, diagnosi di neoplasie o patologie psichiatriche gravi, patologie secondarie gravi che possano interferire con il corretto svolgimento dello studio

Lo studio è conforme alla dichiarazione etica dell'ISHLT. Il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica della provincia di Padova (protocollo 0063656, progetto 425n/AO/23) e rispetta le linee guida della Dichiarazione di Helsinki. Ogni partecipante ha dato il consenso informato scritto a partecipare allo studio.

2.2 Raccolta dati

Per ciascuno dei partecipanti allo studio venivano eseguite le procedure riportate di seguito.

2.2.1 Anamnesi del paziente

Dall'analisi delle cartelle cliniche venivano ricavate informazioni relative alla storia clinica e farmacologica dei pazienti. In particolare: abitudini alimentari e tabagica, consumo di alcolici, attività fisica, abitudini sessuali, storia clinica andrologica (criptorchidismo, traumi, infezioni, interventi chirurgici al testicolo), presenza di patologie reumatologiche, gastroenterologiche, renali, endocrinologiche, neoplastiche, psichiatriche, familiarità per testicolopatie e infertilità, uso abituale di farmaci che possano influenzare la funzione testicolare (steroidi sessuali, gonadotropine).

2.2.2 Esame obiettivo andrologico

L'esame obiettivo andrologico è mirato ad approfondire le caratteristiche strutturali e morfologiche di pene, testicoli, epididimi, deferenti, strutture funicolari e prostata, oltre che la valutazione dei caratteri sessuali secondari. Di particolare rilievo è la valutazione (mediante orchidometro) del volume testicolare, che orienta, insieme alle valutazioni successive, sull'origine dell'infertilità (pre-testicolare, primaria testicolare, post-testicolare). È bene condurre, dapprima, una valutazione con paziente in ortostatismo in quanto in tale postura si evidenziano con maggiore facilità le singole strutture della borsa scrotale; eventuali varicosità della vena spermatica potranno essere evidenziate e amplificate con la manovra di Valsalva (varicocele con reflusso). Il passaggio in clinostatismo potrà confermare una diagnosi di stasi vascolare (svuotamento del varicocele) e consentire lo studio di altre patologie (idrocele, canale inguinale pervio, criptorchidismo). La prostata deve essere studiata mediante esplorazione rettale che consente, se correttamente eseguita, di dare notizie sullo stato delle vie seminali. L'esplorazione rettale è particolarmente importante nei pazienti con sospette infezioni o infiammazione del tratto riproduttivo o in presenza di particolari anomalie del liquido seminale (alta viscosità, alterazioni del pH, leucocitospermia, ab anti-spermatozoo).

2.2.3 Studio dei parametri seminali

Lo studio dei parametri seminali veniva stato eseguito in accordo con la sesta edizione (2021) del manuale *WHO laboratory manual for examination and processing of human semen*. (67) La fase analitica viene suddivisa in 2 momenti distinti: valutazione macroscopica e microscopica. La prima parte dell'analisi consiste nella valutazione dei parametri macroscopici

quali volume, aspetto, viscosità, fluidificazione e pH. La seconda parte dell'analisi consiste nella valutazione dei parametri microscopici che deve essere sempre eseguita al termine dei processi di fluidificazione del campione.

In primo luogo l'operatore verifica la concentrazione spermatica attraverso la camera di conta di Makler; si tratta di una griglia 10x10 che consente di determinare la concentrazione spermatica (milioni di spermatozoi / ml) attraverso il conteggio e la lettura del numero di spermatozoi nelle singole righe. Tale valore viene poi moltiplicato per il volume totale, così da ottenere il numero di spermatozoi totali nell'eiaculato. L'osservazione in camera di Makler è utilizzata inoltre per valutare la componente non gametica, rappresentata da cellule di sfaldamento, in cui viene fatta valutazione semiquantitativa che va da ---- (assenza) a ++++ (presenza massiva), round cells (v.n. < 5.0 milioni/ml), emazie (v.n. < 1.0 milioni/ml), leucociti (v.n. < 1.0 milioni/ml) e numero totale di spermatidi.

Un altro parametro importante è la motilità, che viene valutata, generalmente, in camera di Makler. La motilità viene suddivisa in 4 categorie:

- PROGRESSIVA RAPIDA (25 $\mu\text{m/s}$): spermatozoi che si muovono attivamente, in modo lineare o circolare, coprendo una distanza, dal punto iniziale al punto finale, di almeno 25 μm in un secondo.
- PROGRESSIVA LENTA (da 5 a < 25 $\mu\text{m/s}$): spermatozoi che si muovono attivamente, in modo lineare o circolare, coprendo una distanza, dal punto iniziale al punto finale, da 5 a < 25 μm in un secondo.
- NON PROGRESSIVA (< 5 $\mu\text{m/s}$): tutti gli altri modelli di movimenti attivi della coda con assenza di progressione, movimento in situ.
- ASSENTE: nessun movimento di coda attivo.

Una motilità normale è definita da una percentuale di spermatozoi con motilità progressiva (PR) superiore al 32% e/o da una percentuale di spermatozoi mobili totali (PR+NP) superiore al 40%. Per valori inferiori si parla di astenozoospermia.

Il test della vitalità valuta l'integrità di membrana dello spermatozoo, ovvero la sua capacità escludere l'accesso di qualsiasi colorante quando la membrana è integra. La sostanza usata per questo test è l'eosina. Gli spermatozoi colorati di rosso verranno considerati morti (danno di

membrana) mentre quelli non colorati sono da considerarsi vitali. Si parla di necrozoospermia quando la percentuale di cellule vive è inferiore al 54%.

La valutazione morfologica si basa sulla distinzione tra forme tipiche (v.n. $\geq 4\%$) e forme atipiche. Le forme atipiche possono interessare la testa (macrocefali, microcefali, anomalie dell'acrosoma, teste allungate, teste appuntite, teste doppie), il collo (angolazioni del collo), o la coda (code attorcigliate, code doppie). Nel caso in cui la percentuale di forme atipiche superi il 96%, si parla di teratozoospermia. Nell'esame del liquido seminale vanno tenute in considerazione anche le probabili agglutinazioni che si possono riscontrare e che possono coinvolgere testa, tratto intermedio e coda degli spermatozoi. Nel referto viene utilizzata una scala semiquantitativa che va da ---- (assenza) a ++++ (agglutinazioni massive).

Il Mar-Test consente di evidenziare l'eventuale presenza di anticorpi IgG sulla superficie della membrana plasmatica degli spermatozoi. Il kit (SperMarTest) consta di 2 soluzioni: una composta da particelle di lattice rivestite da IgG umane e l'altra da anticorpi anti-IgG umani. Le soluzioni vengono applicate direttamente sul liquido seminale a fresco (5 μ l di liquido seminale, 5 μ l di particelle di lattice e 5 μ l di anticorpi anti-IgG); si miscela il tutto e si osserva al microscopio con obiettivo a 40x. In caso di positività anticorpale si crea un "anticorpo-ponte" che permette la formazione di agglutinazioni fra particelle in lattice e spermatozoi mobili. Se la percentuale di spermatozoi mobili con adese le particelle di lattice supera il 50% di tutti gli spermatozoi visualizzati mobili, il paziente rientra nei casi di patogenicità immunologica. Valori di positività inferiori al 50% indicano un basso grado di positività al test che viene comunque segnalato.

2.2.4 Studio dei cromosomi e del DNA spermatico

Il test delle aneuploidie spermatiche è uno strumento diagnostico mirato a studiare l'origine genetica dell'infertilità maschile. Per questo tipo di indagine viene utilizzato il kit Empire Genomics per l'identificazione di aneuploidie cromosomiche locus specifiche (cr.18-13-21) e centromeriche (cr.18-X-Y). In base alla concentrazione che si evince dallo spermioγραμμα, si trasferisce un' idonea aliquota di campione proveniente dalla routine giornaliera. Il volume di liquido seminale trasferito viene lavato a T ambiente e centrifugato a 1200 rpm per 10 minuti. Per tutti i campioni si gocciolano circa 100 μ l per vetrino. I vetrini devono essere conservati a -20°C almeno una notte prima della decondensazione. In seguito, si lasciano asciugare i vetrini, quindi si controlla il grado di decondensazione al microscopio a 40X in contrasto di fase: se è sufficiente si procede con l'ibridazione, altrimenti si ripete a partire dal

NaOH. Per l'ibridazione vengono utilizzate sonde Empire Genomics mantenute a 4°C fino al momento dell'uso. Su ciascun vetrino vengono messi 12 µl di sonda corrispondente. Per la lettura manuale si utilizza un microscopio a fluorescenza, mentre per la lettura automatizzata viene utilizzato un microscopio a fluorescenza collegato ad un computer dotato di un programma (DUET) che permette la lettura in automatico dei vetrini alloggiati su un vassoio scorrevole direttamente collegato al microscopio stesso.

Il tunel test è un test che valuta la frammentazione a singola elica del DNA. In questo test, un enzima chiamato desossinucleotidil-transferasi terminale catalizza l'aggiunta di nucleotidi dUTP alle estremità libere 3' del DNA frammentato. Utilizzando dUTP etichettati con tag chimici in grado di produrre fluorescenza le cellule con DNA danneggiato possono essere identificate in modo specifico e quantificate tramite citofluorimetria. Il citofluorimetro dà come risultato una percentuale che esprime il numero di frammentazioni a singola elica all'interno della popolazione di spermatozoi analizzata. In caso di liquidi seminali con una concentrazione di spermatozoi inferiore a 1,5 milioni è preferibile utilizzare la tecnica tunel test su vetrino: la tecnica di preparazione del campione è la medesima del "tunel test" ma l'analisi viene effettuata attraverso la microscopia a fluorescenza. La patogenicità si attribuisce a campioni in cui la percentuale di spermatozoi patologici supera il 20% degli spermatozoi analizzati.

Il test dell'arancio di acridina, è una tecnica utilizzata in microscopia è un test citochimico che si basa sulla differente suscettibilità del DNA alla parziale denaturazione indotta da uno shock termico o dall'ambiente acido. Quando l'arancio di acridina si lega alla struttura integra del DNA emette fluorescenza verde (test negativo) mentre legandosi al DNA denaturato a singolo filamento (test positivo) emette fluorescenza giallo-rossa. Il test viene effettuato posizionando una goccia di 10 µl di arancio di acridina a contatto con 10 µl di liquido seminale ed osservando il tutto al microscopio a fluorescenza con obiettivo a 40x. La patogenicità si attribuisce a campioni in cui la percentuale di spermatozoi patologici (giallo-rossa) supera il 30% degli spermatozoi analizzati (almeno 100 spermatozoi).

2.2.5 Studio degli ormoni sessuali

Venivano raccolti i dati relativi ai seguenti esami bioumorali: estradiolo, testosterone totale, ormone luteinizzante (LH), ormone follicolo-stimolante (FSH) e prolattina (PRL). Le analisi venivano effettuate secondo procedure standard presso i laboratori dell'ospedale dell'Università di Padova, i quali sono in possesso dell'accreditazione della Patologia Clinica.

2.2.6 Ecocolordoppler scrotale

L'esame veniva eseguito con il paziente disteso in posizione supina e con il pene sollevato verso l'addome. Veniva posizionato sullo scroto un gel per facilitare la trasduzione del segnale ultrasonografico. Per la raccolta delle immagini veniva utilizzata una sonda Doppler lineare (7.5-12 MHz) ad alta risoluzione. Si raccoglievano immagini trasverse e sagittali di entrambi i testicoli per la definizione del volume testicolare, dell'ecostruttura del parenchima e dello stato di perfusione. Le immagini venivano lette e interpretate da personale medico qualificato.

2.2.7 Ecografia scrotale con mezzo di contrasto

Per studiare il microcircolo testicolare si somministrava in vena antecubitale 2,5 ml di un mezzo di contrasto composto da microbolle contenenti esafluoruro di zolfo e stabilizzate con fosfolipidi, subito seguiti da un'iniezione rapida di 5 ml di soluzione fisiologica NaCl 0,9%. Per la procedura si utilizzava un catetere intravenoso 21G.

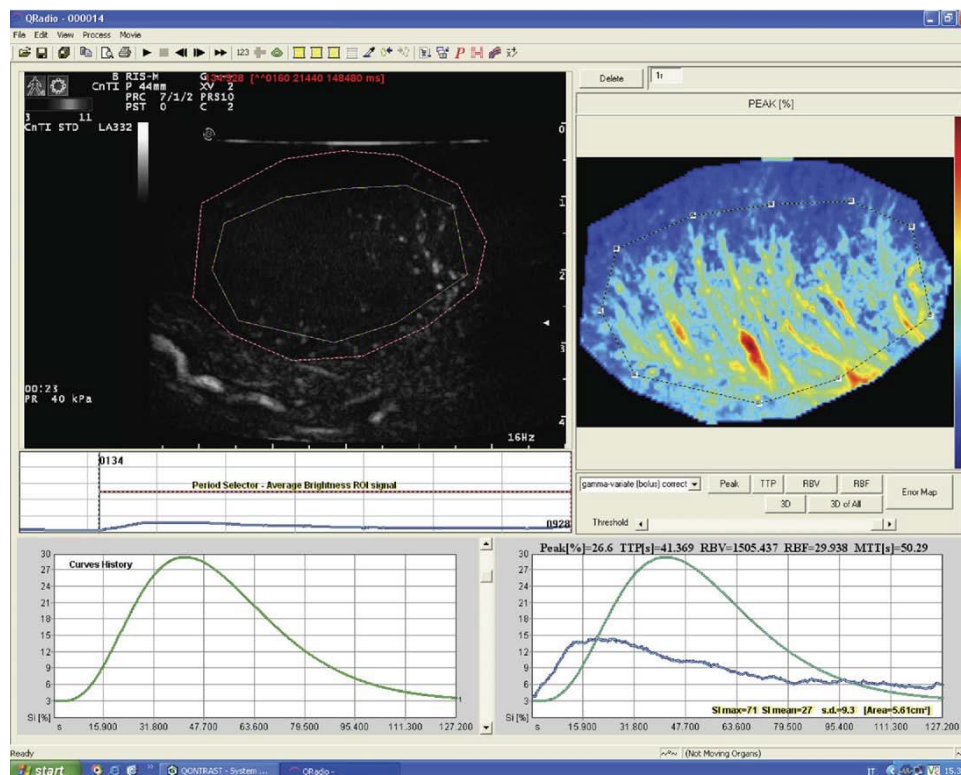


Figura 22. Elaborazione digitale della curva intensità-tempo dell'ecografia scrotale con mdc

Si registrava un videoclip di 3 minuti a 15 frame/s dopo 20 secondi dall'iniezione del mezzo di contrasto. I videoclip venivano analizzati automaticamente con il programma Qontrast. Il software elaborava le curve intensità-tempo e calcolava i tempi di arrivo del mezzo di contrasto nella circolazione arteriolare (wash-in), il time to peak (TTP), il tempo di arrivo del mezzo di contrasto nella circolazione venulare (wash-out) e il mean transit time (MTT). (Figura 22) La

procedura veniva ripetuta per il testicolo controlaterale dopo un intervallo di 10 minuti, per permettere la completa eliminazione del mezzo di contrasto.

2.2.8 Intervento di scleroembolizzazione retrograda

L'intervento di scleroembolizzazione retrograda veniva eseguito secondo la procedura descritta da Di Bisceglie et al (68). Previa anestesia locale (5 ml di lidocaina al 2%) si inseriva un catetere in vena femorale destra, per poi avanzare in vena cava inferiore fino alla vena renale destra sotto guida fluoroscopica. Durante manovra di Valsalva veniva iniettato un mezzo di contrasto angiografico per dimostrare la presenza di insufficienza valvolare e reflusso venoso in vena spermatica sinistra (Figura 23).



Figura 23. Reflusso in vena spermatica sinistra durante flebografia della vena renale



Figura 24. Cateterizzazione selettiva della vena spermatica interna

Si eseguiva una cateterizzazione selettiva della vena spermatica sinistra per evidenziare i dettagli morfologici dei vasi e verificare l'assenza di circoli collaterali (Figura 24). La scleroembolizzazione veniva realizzata posizionando un catetere 24F in vena spermatica sinistra al di sotto di qualsiasi vena collaterale o circolo anastomotico, in accordo con l'anatomia della rete venosa spermatica. Si chiedeva al paziente di massaggiare il testicolo per facilitare l'eliminazione del mezzo di contrasto e permettere all'agente sclerosante di

raggiungere le varici venose responsabili del reflusso. Si iniettava quindi un mezzo sclerosante (atossisclerolo 3%) miscelato al mezzo di contrasto per monitorarne il percorso retrogrado in vena spermatica. Durante l'iniezione, si chiedeva al paziente di eseguire la manovra di Valsalva per evitare il reflusso dell'agente sclerosante in vena renale e favorire così una rapida riuscita della procedura. Allo stesso tempo, la compressione della vena spermatica a livello del canale inguinale preveniva la trombosi del plesso pampiniforme. Successivamente si eseguiva una seconda flebografia per valutare i risultati della sclerosi (Figura 25).



Figura 25. Risultato della sclerosi: occlusione della vena spermatica sinistra e assenza di reflusso

Alla fine della procedura il catetere veniva rimosso, la zona di accesso veniva adeguatamente compressa e medicata, e si dimetteva il paziente dopo qualche ora di osservazione.

2.2.9 Intervento di scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber

L'intervento di scleroembolizzazione retrograda veniva eseguito secondo la procedura descritta da Keene et al (69). Previa anestesia locale (5 ml di lidocaina al 2%) o anestesia spinale, si eseguiva un'incisione scrotale sinistra a livello del cordone spermatico. Si aprivano le fasce spermatica esterna e interna e si individuava il plesso pampiniforme. Si isolava e incannulava una vena con un catetere 24F, e si iniettava un mezzo di contrasto flebografico (Omnipaque 300mg/ml) per confermare l'anatomia venosa. Dopo aver posizionato il paziente in posizione anti-Trendelemburg a 30° e aver chiesto di eseguire la manovra di Valsalva, si procedeva con la somministrazione dell'agente sclerosante (atossisclerolo 3%). Si verificava il successo della procedura con una seconda flebografia. Il catetere veniva quindi rimosso, le fasce spermatiche venivano richiuse e la ferita esterna veniva suturata. Si dimetteva il paziente dopo qualche ora di osservazione.

2.3 Analisi statistiche

I dati venivano raccolti su supporto informatico in forma pseudoanonimizzata. Le variabili analizzate venivano computate come variabili categoriche o continue. La prevalenza di alterazioni seminali, ormonali ed ecografiche erano calcolate in %. Per valutare il miglioramento dei parametri seminali, ormonali ed ecografici nel follow-up venivano confrontati i dati mediante t-test. Per valutare l'impatto delle covariate sul miglioramento dei parametri seminali, ormonali ed ecografici nei pazienti con varicocele, i parametri clinici, laboratoristici e strumentali venivano messi in correlazione mediante indice di correlazione r di Pearson. Il livello di significatività p veniva fissato a 0,05. Per determinare l'impatto delle singole covariate sulla fertilità maschile nei pazienti con varicocele, si eseguiva, ove appropriato, un'analisi di regressione lineare stepwise.

Tutte le analisi statistiche venivano condotte con software SPSS versione 23.0 (SPSS Inc, Chicago, USA).

RISULTATI

Sono stati inclusi nello studio 73 pazienti con diagnosi di varicocele candidati a sclerosi secondo i criteri riportati nel paragrafo 1.6.1. All'interno del campione, 32 pazienti erano stati trattati con intervento di sclerotizzazione retrograda (SR), mentre 41 pazienti erano stati trattati con intervento di sclerotizzazione anterograda secondo Tauber (SA).

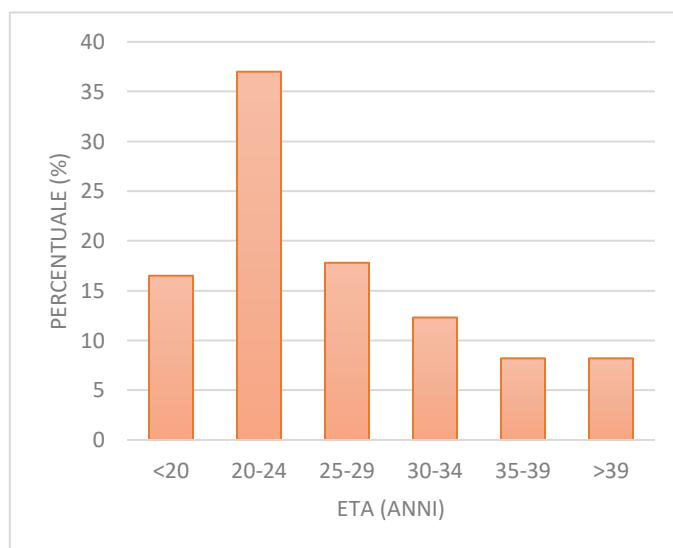
3.1 Analisi dei dati pre-intervento

3.1.1 Analisi dei dati sul campione generale

3.1.1.1 *Distribuzione per età*

In Figura 26 è riportata la distribuzione percentuale per età al momento dell'intervento. L'età media nel campione generale al momento dell'intervento era 26.2 ± 8.0 anni.

Figura 26. Distribuzione percentuale dell'età al momento dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele



Le caratteristiche del campione prima dell'intervento (valori ormonali, parametri seminali, parametri ecografici) sono riportate in Tabella 8, Tabella 9 e Tabella 10.

3.1.1.2 Valori ormonali

Tabella 8. Valori ormonali prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>media ± SD</i>	<i>Valori di riferimento (% di pazienti con valori alterati)</i>
FSH (U/l)	7.8 ± 6.9	≤8 (37.0)
LH (U/l)	6.1 ± 3.5	≤8 (19.2)
Testosterone (nmol/l)	16.4 ± 6.1	9.7 – 38.2 (15.1)
Estradiolo (pmol/l)	78.1 ± 35.4	37 – 132 (8.2)
Prolattina (ng/ml)	13.8 ± 7.0	5.0 – 15.0 (34.3)

Abbreviazioni:

SD: deviazione standard

U: unità internazionali

FSH: ormone follicolo-stimolante

LH: ormone luteinizzante

Se si prendono in considerazione i valori medi ormonali nel campione generale prima dell'intervento, FSH, LH, testosterone, estradiolo e prolattina risultavano tutti essere compresi nel range di normalità. I valori di gonadotropine risultavano elevati rispettivamente nel 37.0% dei casi per quanto riguarda l'FSH e nel 19.2% dei casi per quanto riguarda l'LH. La percentuale di pazienti con ridotti livelli di testosterone si attestava al 15.1%. La percentuale di pazienti con valori di estradiolo superiori ai limiti di norma era dell'8.2%, mentre la percentuale di pazienti con valori di prolattina superiori ai limiti di norma era del 34.3%.

3.1.1.3 Parametri seminali

Tabella 9. Parametri seminali prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>media ± SD</i>	<i>Valori di riferimento (% di pazienti con valori alterati)</i>
Volume seminale (ml)	2.8 ± 1.7	≥1,5 (19.2)
pH	7.5 ± 0.2	7,2 – 8,0 (5.5)
Conc. spermatica (mil/ml)	15.1 ± 17.7	≥15 (67.1)
N. Spermatozoi totali (mil)	39.1 ± 54.5	≥40 (69.9)
Motilità progressiva %	36.9 ± 20.7	≥32 (43.8)
Motilità non progressiva %	9.9 ± 7.8	≥8 (45.2)
Motilità totale %	46.8 ± 21.0	≥40 (37.0)
N. Spermatozoi mobili (mil)	21.4 ± 35.2	≥16 (67.1)
Spermatozoi immobili %	53.2 ± 21.1	
Vitalità %	78.3 ± 11.8	≥58 (6.9)
Forme tipiche %	7.2 ± 6.2	≥4 (20.6)

Abbreviazioni:

SD: deviazione standard

mil: milioni

I valori medi dei parametri seminali nel campione generale prima dell'intervento risultavano essere nei limiti di norma, ad eccezione della conta totale di spermatozoi. La concentrazione spermatica si attestava ai limiti inferiori del range di normalità con un valore medio di 15.1 ± 17.7 mil/ml. La percentuale di pazienti con concentrazione spermatica sotto i limiti di norma prima dell'intervento era del 67.1%, mentre quella dei pazienti con ridotta conta totale di spermatozoi era del 69.9%.

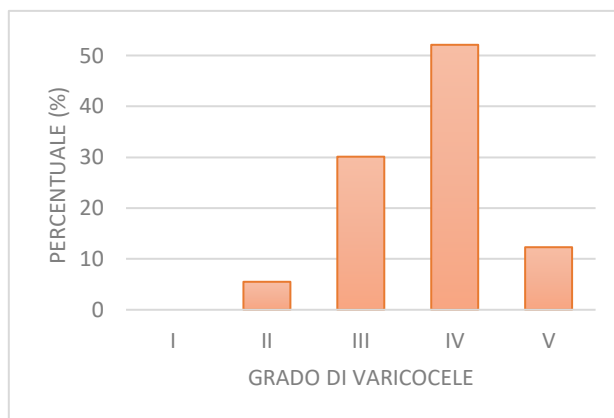
Nonostante il valore medio della motilità totale risultasse nel range di normalità, la percentuale di pazienti con astenozoospermia risultava essere del 37.0%. La percentuale di pazienti con valori di vitalità spermatica inferiori ai limiti di norma era del 6.9%. Infine, la percentuale di pazienti con ridotta percentuale di forme tipiche era del 20.6%.

Il tasso di positività al MAR test per la ricerca di anticorpi anti-spermatozoo prima dell'intervento era pari a 8.2% dei soggetti con percentuale di positività media del 10.8%.

3.1.1.4 Parametri ecografici

In Figura 27 è riportata la distribuzione dei pazienti in base al grado di varicocele prima dell'intervento.

Figura 27. Distribuzione percentuale dei pazienti in base al grado di varicocele pre-intervento nei N=73 pazienti con varicocele



La percentuale di pazienti con varicocele bilaterale era del 9.6%, tutti con varicocele destro di I/II grado. Non erano presenti nel campione pazienti con varicocele monolaterale destro.

Tabella 10. Parametri ecografici e parametri di perfusione testicolare con mezzo di contrasto prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>media ± SD</i>	<i>Valori di riferimento (% di pazienti con valori alterati)</i>
Volume sn (cc)	12.4 ± 3.7	≥12 (50.7)
Volume dx (cc)	14.6 ± 4.2	≥12 (21.9)
Volume bitesticolare (cc)	27.0 ± 7.2	
TTP sn (s)	25.9 ± 10.4	
MTT sn (s)	39.4 ± 11.3	≤36 (61.9)
Wash-in sn (s)	13.6 ± 5.3	
Wash-out sn (s)	26.5 ± 8.3	
TTP dx (s)	22.3 ± 7.3	
MTT dx (s)	34.6 ± 10.1	≤36 (38.1)
Wash-in dx (s)	11.5 ± 4.3	
Wash-out dx (s)	23.4 ± 8.7	

Abbreviazioni:

SD: deviazione standard

TTP: time to peak

MTT: mean transit time

Prendendo in considerazione i parametri ecografici nel campione generale prima dell'intervento, i volumi testicolari medi risultavano essere nei limiti di norma, con valore medio bitesticolare pari a 27.0 ± 7.0 cc. La percentuale di pazienti con ipotrofia testicolare sinistra era del 50.7%, mentre la percentuale di pazienti con ipotrofia testicolare destra era del 21.9%. Il valore medio di MTT sinistro risultava aumentato rispetto all'intervallo di riferimento, con valore di 39.4 ± 11.3 s. La percentuale di pazienti con MTT sinistro superiore al cut-off, indicativo di un rallentamento della perfusione del microcircolo testicolare, era del 61.9%.

3.1.1.5 Studio di correlazione prima dell'intervento

3.1.1.5.1 Età

E' stata osservata una correlazione significativa tra l'età, la concentrazione spermatica e la motilità spermatica. Nello specifico all'aumentare dell'età si riducevano concentrazione e motilità progressiva, con un aumento parallelo della motilità non progressiva. I dati e i coefficienti di correlazione sono riportati nelle Figure 28a e 28b.

Figura 28a. Correlazione tra età e concentrazione spermatica prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

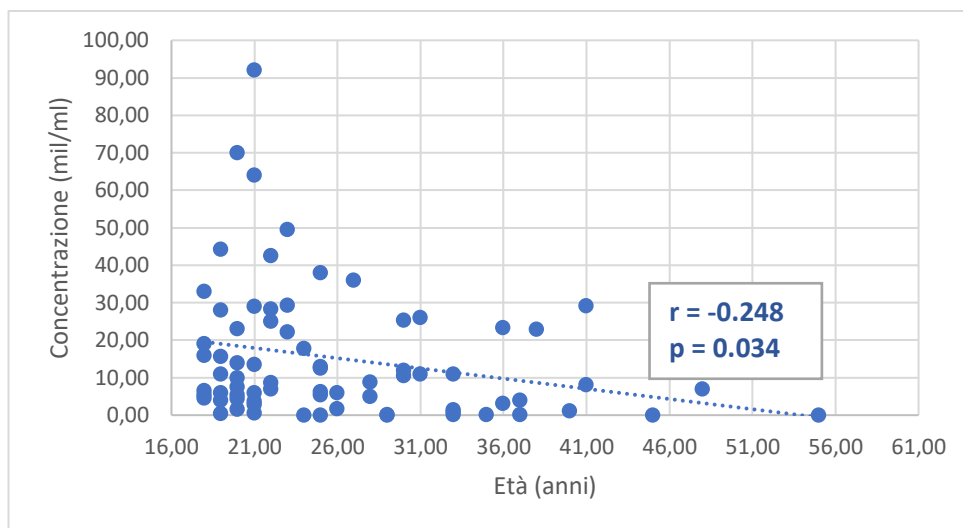
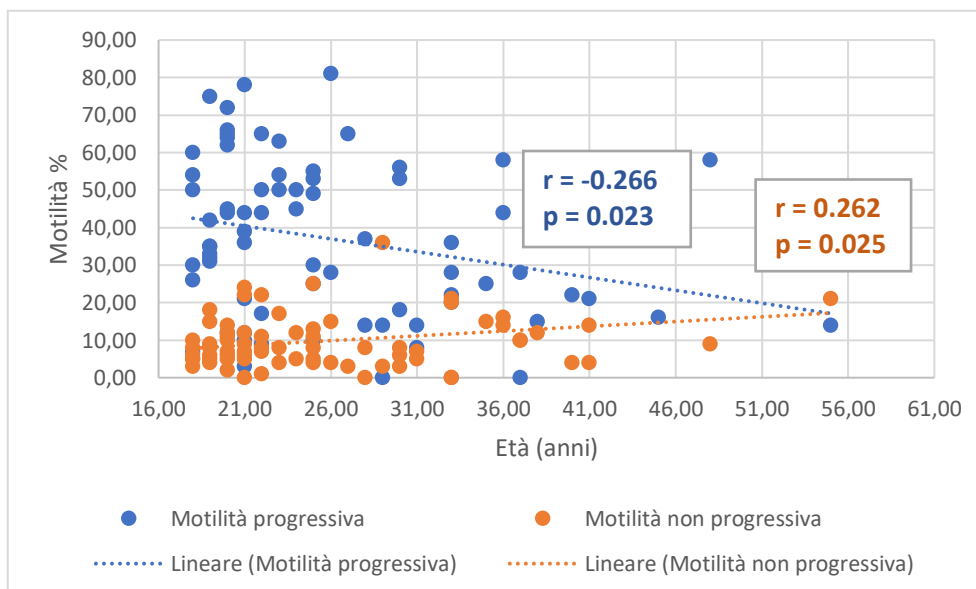


Figura 28b. Correlazione tra età e motilità prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele



Inoltre, è stata evidenziata una correlazione statisticamente significativa anche tra età, FSH e testosterone. Infatti, all'aumentare dell'età all'intervento aumentano i livelli sierici di FSH con una diminuzione parallela dei livelli di testosterone, come evidenziato in Figura 29a e 29b.

Figura 29a. Correlazione tra età e FSH prima dell'intervento nei N°73 pazienti con varicocele

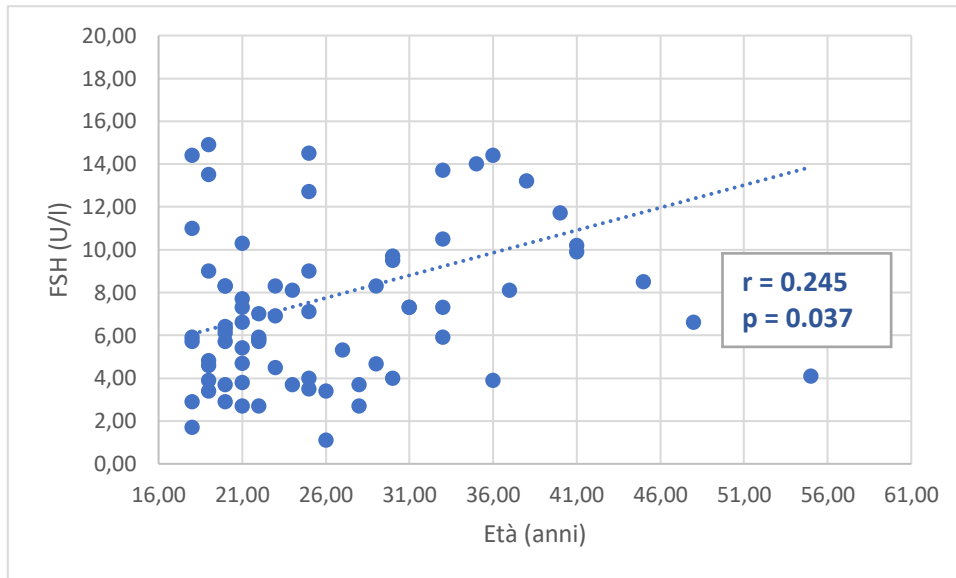
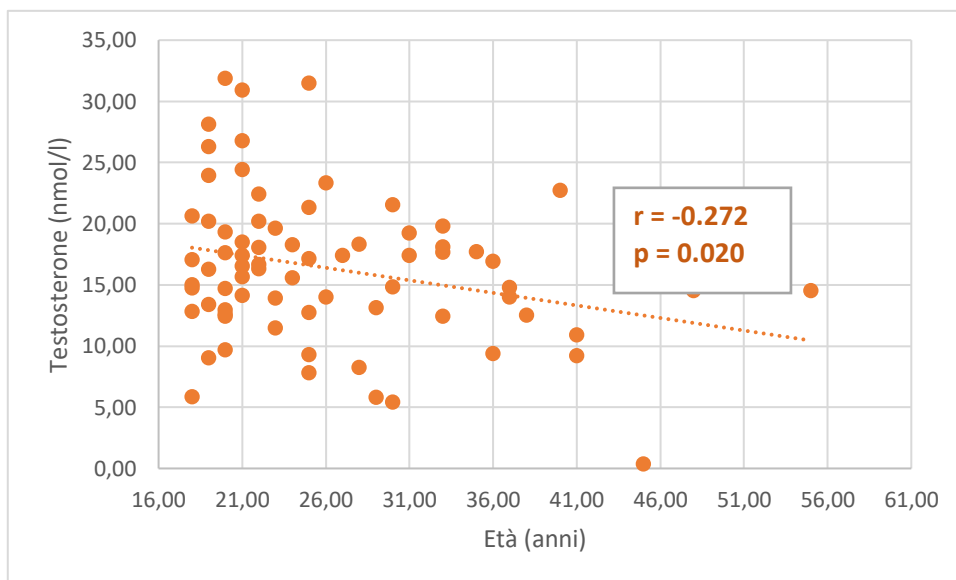


Figura 29b. Correlazione tra età e testosterone prima dell'intervento nei N°73 pazienti con varicocele



3.1.1.5.2 Volume testicolare sinistro

Considerando il volume testicolare sinistro emergeva una correlazione statisticamente significativa con la conta spermatica totale, il numero di spermatozoi mobili totali e la % di motilità totale (Figura 30a e 30b). Si riscontrava anche una correlazione negativa tra il volume testicolare sinistro e i livelli circolanti di FSH e LH (Figura 31).

Figura 30a. Correlazione tra volume testicolare sinistro, conta spermatica totale e numero di spermatozoi mobili totali prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

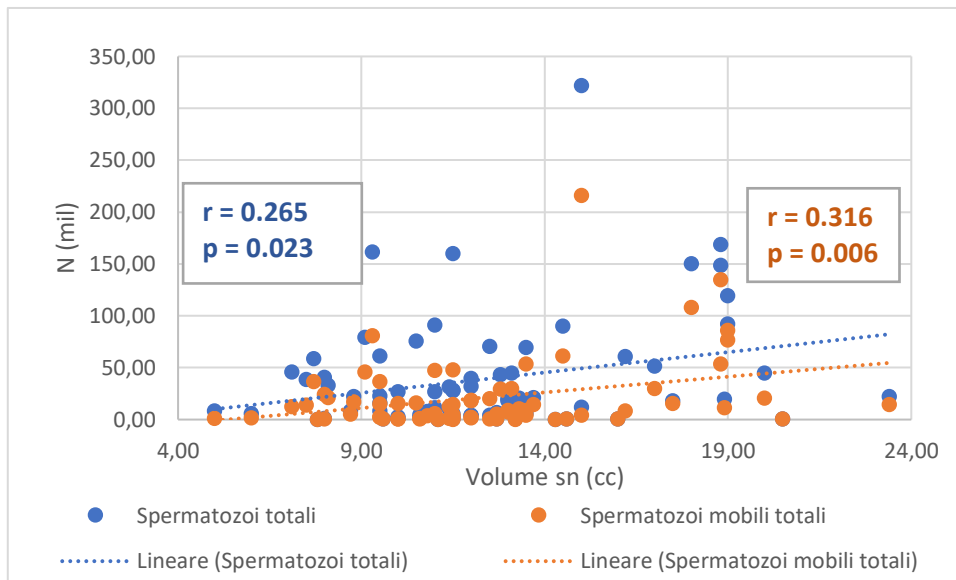


Figura 30b. Correlazione tra volume testicolare sinistro e motilità totale prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

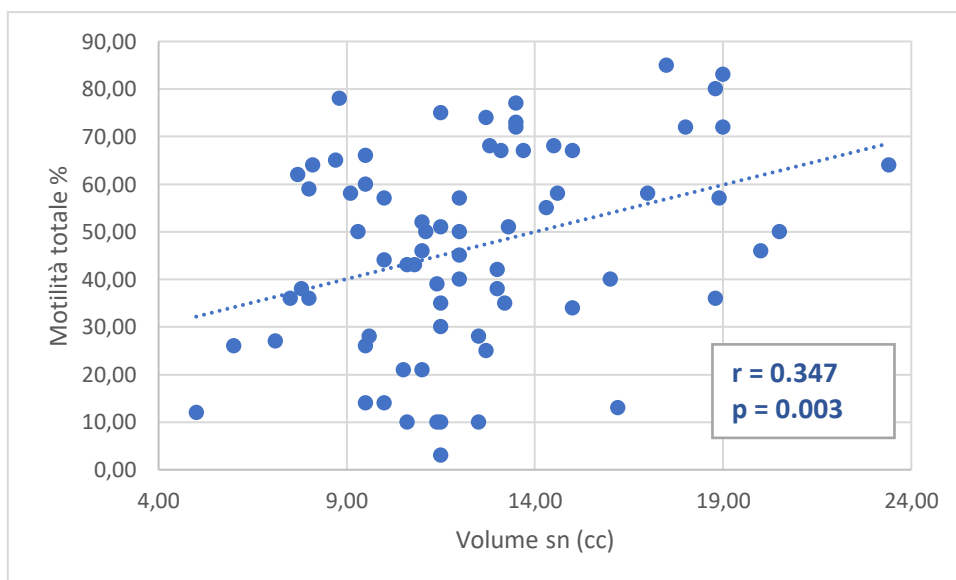
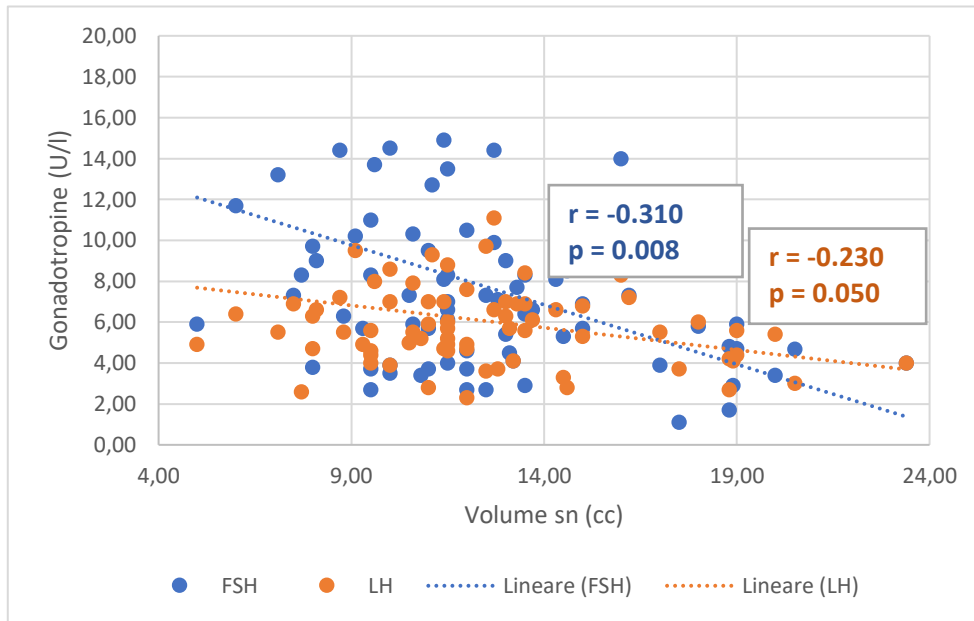


Figura 31. Correlazione tra volume testicolare sinistro e gonadotropine prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele

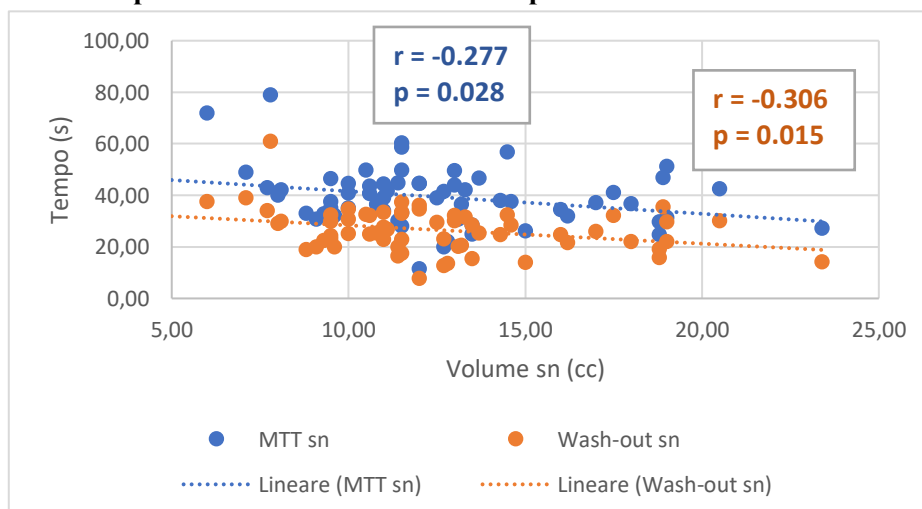


L'analisi di regressione lineare stepwise ha messo in luce che il volume testicolare sinistro risultava essere l'unico parametro predittivo indipendente per numero di spermatozoi mobili totali e la % di motilità spermatica totale ($p < 0.01$).

3.1.1.5.3 Tempi di perfusione del testicolo sinistro

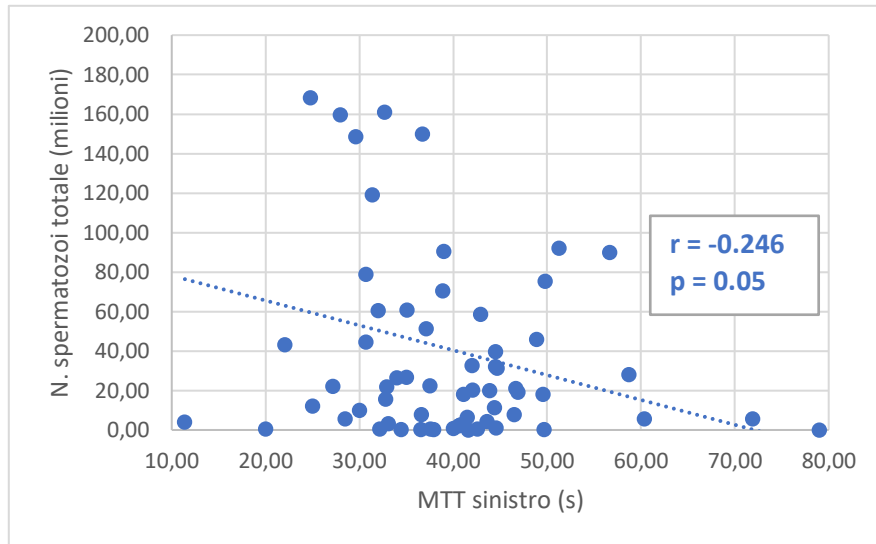
Il volume testicolare sinistro risultava correlato in modo significativo anche con i parametri di perfusione MTT sinistro e wash-out sinistro (Figura 32). In particolare, al diminuire del volume testicolare sinistro si osservava un aumento dei tempi di perfusione.

Figura 32. Correlazione tra volume testicolare sinistro e tempi di perfusione prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele



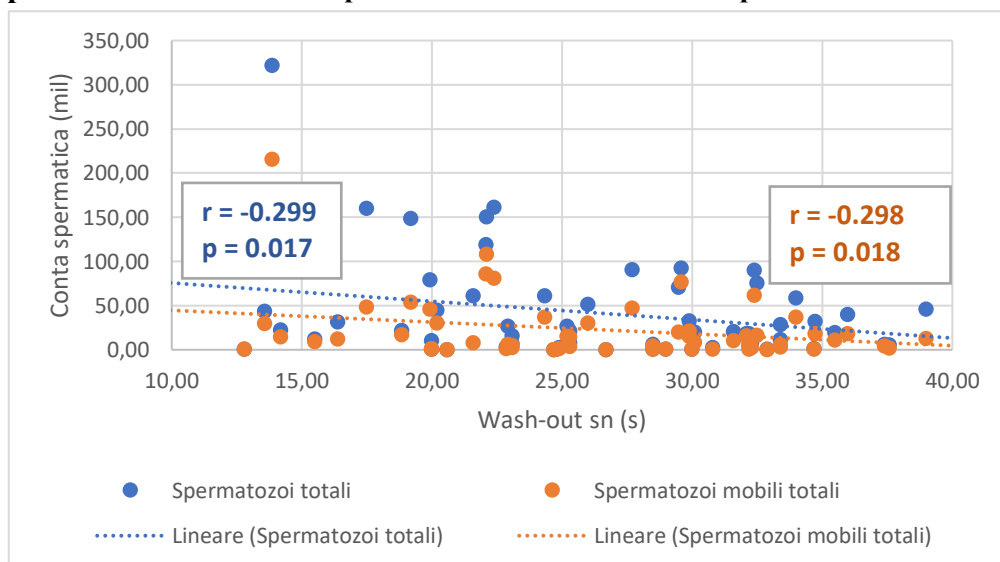
E' stata osservata una correlazione statisticamente significativa tra il valore di MTT sinistro e il numero di spermatozoi totali ($p=0.05$), come riportato in Figura 33. All'aumentare del tempo di perfusione testicolare sinistra si associa una riduzione del numero di spermatozoi totali.

Figura 33. Correlazione tra MTT sinistro e numero di spermatozoi totali prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele



Inoltre è stata osservata una importante correlazione tra il tempo di wash-out sinistro, la conta spermatica totale e il numero totale di spermatozoi mobili (Figura 34). Eseguendo un'analisi di regressione lineare stepwise, il tempo di wash-out sinistro risultava essere un parametro predittivo indipendente del numero totale di spermatozoi ($p=0.017$).

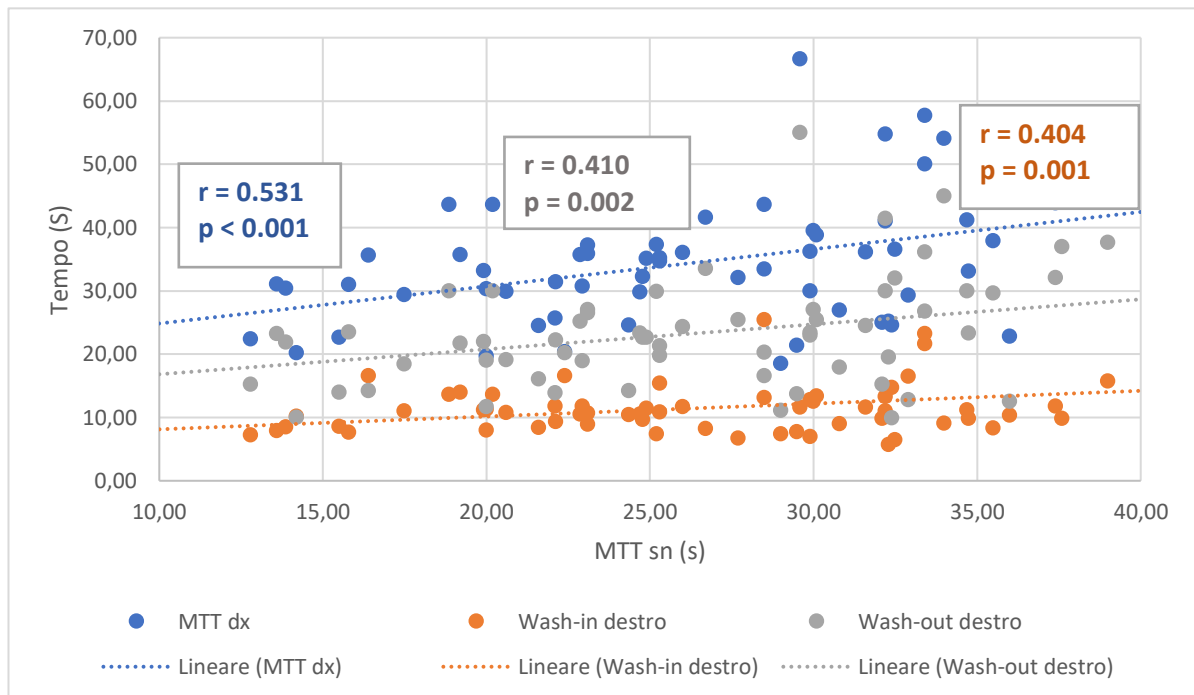
Figura 34. Correlazione tra wash-out sinistro, conta spermatica totale e numero di spermatozoi mobili totali prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele



I tempi di perfusione MTT sinistro e wash-out sinistro correlavano positivamente anche con i valori di FSH e LH circolante. Maggiore è il rallentamento del microcircolo testicolare sinistro più elevati erano i livelli di gonadotropine circolanti.

E' interessante osservare la presenza di una forte correlazione positiva tra i parametri di perfusione del testicolo sinistro e quelli del testicolo destro. A un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro si accompagnava un parallelo rallentamento del microcircolo testicolare destro. Riportiamo in Figura 35 la correlazione tra MTT sinistro, MTT destro, wash-in destro e wash-out destro.

Figura 35. Correlazione tra MTT sinistro, MTT destro, wash-in destro e wash-out destro prima dell'intervento nei N=73 pazienti con varicocele



3.1.1.5.4 Grado di varicocele

Non è stata osservata nessuna correlazione significativa tra il grado di varicocele e i parametri seminali, ormonali ed ecografici prima dell'intervento.

3.1.2 Analisi dei dati divisi per tipo di intervento

3.1.2.1 *Distribuzione per età*

Riportiamo in Figura 36a e in Figura 36b le distribuzioni percentuali per età al momento dell'intervento nei due sottogruppi.

Figura 36a. Distribuzione percentuale dell'età al momento dell'intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a scleroembolizzazione retrograda.

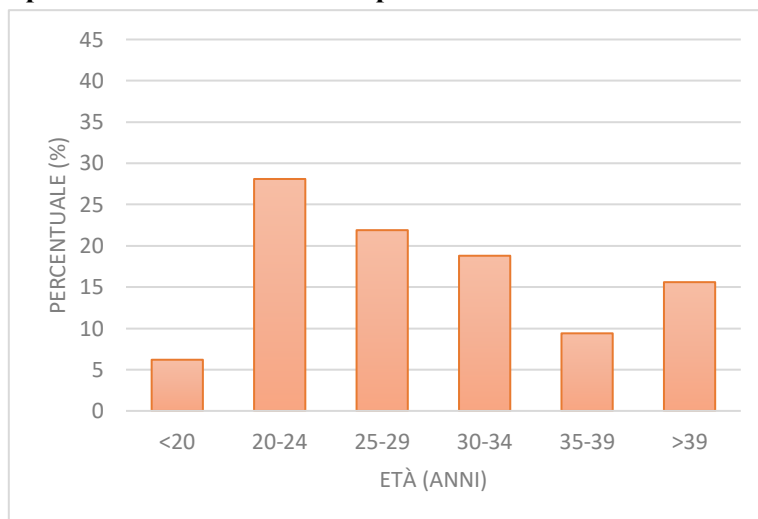
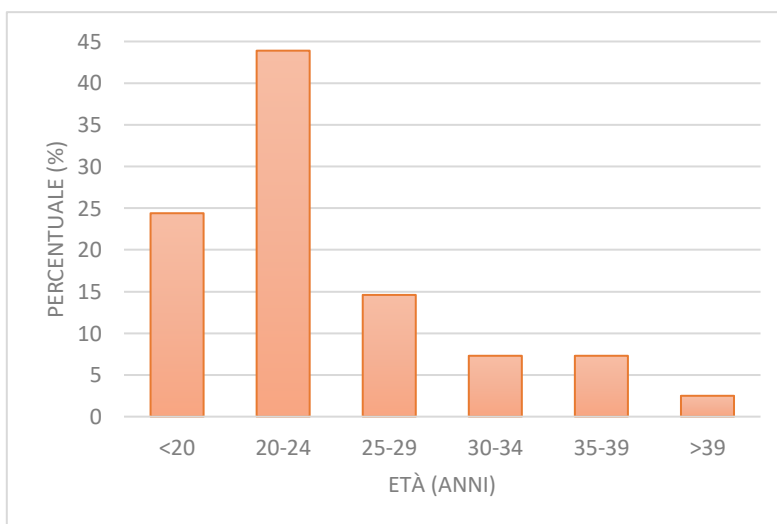


Figura 36b. Distribuzione percentuale dell'età al momento dell'intervento nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber.



L'età media all'intervento era 29.3 ± 9.2 anni nel sottogruppo di pazienti sottoposti a sclerotizzazione retrograda e 23.8 ± 6.1 anni nel sottogruppo di pazienti sottoposti a sclerotizzazione anterograda secondo Tauber. L'età media nel primo sottogruppo era significativamente maggiore di quella nel secondo sottogruppo ($p=0.006$).

3.1.2.2 Valori ormonali

Tabella 11. Valori ormonali prima dell'intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SA e nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SR

	SA	SR	p-value
FSH (U/l)	7.5 ± 3.6 (40.6%)	8.0 ± 8.7 (31.7%)	0.743
LH (U/l)	5.9 ± 2.0 (12.5%)	6.2 ± 4.3 (12.2%)	0.631
Testosterone (nmol/l)	15.7 ± 6.1 (15.6%)	16.9 ± 6.1 (14.6%)	0.423
Estradiolo (pmol/l)	70.8 ± 33.7 (3.1%)	83.8 ± 36.1 (12.2%)	0.118
Prolattina (ng/ml)	14.9 ± 7.5 (40.6%)	13.0 ± 6.6 (24.4%)	0.249

*% = percentuale di pazienti con valori alterati (valori di riferimento: FSH ≤ 8 U/l; LH ≤ 8 U/l; testosterone 9,7-38,2 nmol/l; estradiolo 37-132 pmol/l; prolattina 5-15 ng/ml)

Abbreviazioni:

SR: sclerotizzazione retrograda

SA: sclerotizzazione anterograda

U: unità internazionale

FSH: ormone follicolo-stimolante

LH ormone luteinizzante

Sono riportati in Tabella 11 i valori ormonali nel gruppo di pazienti sottoposti a sclerosi retrograda e nel gruppo di pazienti sottoposto a sclerosi anterograda. I valori risultavano tutti essere nei limiti di norma. I due sottogruppi non differivano in maniera statisticamente significativa per FSH, LH, testosterone, estradiolo e prolattina.

3.1.2.3 Parametri seminali

Sono riportati in Tabella 12 i parametri seminali nel gruppo di pazienti sottoposti a sclerosi retrograda e nel gruppo di pazienti sottoposto a sclerosi anterograda. Nel primo gruppo tutti i parametri medi risultavano essere nei limiti di norma. Nel secondo gruppo tutti i parametri medi erano nei limiti di norma a eccezione della concentrazione spermatica (14.6 ± 14.8 mil/ml) e del numero di spermatozoi totali (36.5 ± 57.1 milioni).

Tabella 12. Parametri seminali prima dell'intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR e nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA

	SR	SA	p-value
Volume seminale (ml)	3.0 ± 1.6 (9.4%)	2.7 ± 1.8 (26.8%)	0.450
pH	7.5 ± 0.2 (3.1%)	7.5 ± 0.2 (7.3%)	0.703
Conc. spermatica (mil/ml)	15.7 ± 21.0 (68.8%)	14.6 ± 14.8 (63.4%)	0.793
N. Spermatozoi totali (mil)	42.3 ± 51.7 (65.6%)	36.5 ± 57.1 (70.7%)	0.654
Motilità progressiva %	38.5 ± 22.6	35.6 ± 19.4	0.555
Motilità non progressiva %	10.5 ± 8.9	9.5 ± 6.9	0.576
Motilità totale %	49.1 ± 22.9 (34.4%)	45.0 ± 19.5 (39.0%)	0.428
N. Spermatozoi mobili (mil)	23.9 ± 34.2 (65.6%)	19.3 ± 36.3 (68.3%)	0.583
Spermatozoi immobili %	50.9 ± 22.9	55.0 ± 19.5	0.419
Vitalità %	78.7 ± 12.8 (9.4%)	77.9 ± 11.1 (4.9%)	0.798
Forme tipiche %	5.2 ± 4.0 (28.1%)	8.7 ± 7.1 (14.6%)	0.009
Tunel test %	86.6 ± 6.8 (17.7%)**	NA	NA
Orange di acridina %	84.3 ± 5.8 (0%)**	NA	NA
FISH 18XY %	0.8 ± 0.2 (17.7%)**	NA	NA
FISH 18,13,21 %	1.1 ± 0.2 (61.8%)**	NA	NA

**% = percentuale di pazienti con valori alterati

(valori di riferimento: volume seminale ≥ 1,5 ml, pH 7,2-8,0; concentrazione spermatica ≥ 15 mil/ml; spermatozoi totali ≥ 40 milioni; motilità totale ≥ 40%; spermatozoi mobili ≥ 16 milioni; vitalità ≥ 58%; forme tipiche ≥ 4%, tunel test ≥ 80%, arancio di acridina ≥ 70%, FISH 18XY ≤ 1%, FISH 18,13,21 ≤ 1%)

** i dati relativi ai cromosomi e alla frammentazione del DNA spermatico venivano raccolti solo nel sottogruppo di pazienti sottoposti a sclerosi retrograda.

Abbreviazioni:

SR: sclerotizzazione retrograda

SA: sclerotizzazione anterograda

mil: milioni

NA: non applicabile

Il MAR test rivelava la presenza di anticorpi anti-spermatozoi prima dell'intervento nel 9.4% dei casi nel gruppo 1 e nel 7.3% dei casi nel gruppo 2. Viene indicato nell'ultima colonna il confronto tra i due gruppi attraverso il p-value calcolato con t-test. I due sottogruppi non differivano in maniera significativa per volume seminale, pH, concentrazione spermatica, conta spermatica totale, motilità e vitalità. Era presente una differenza statisticamente significativa nella percentuale di forme tipiche (p=0.009).

3.1.2.4 Parametri ecografici

Riportiamo in Figura 37a e in Figura 37b le distribuzioni percentuali per grado di varicocele al momento dell'intervento nei due sottogruppi.

Figura 37a. Distribuzione percentuale del grado di varicocele pre-intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR

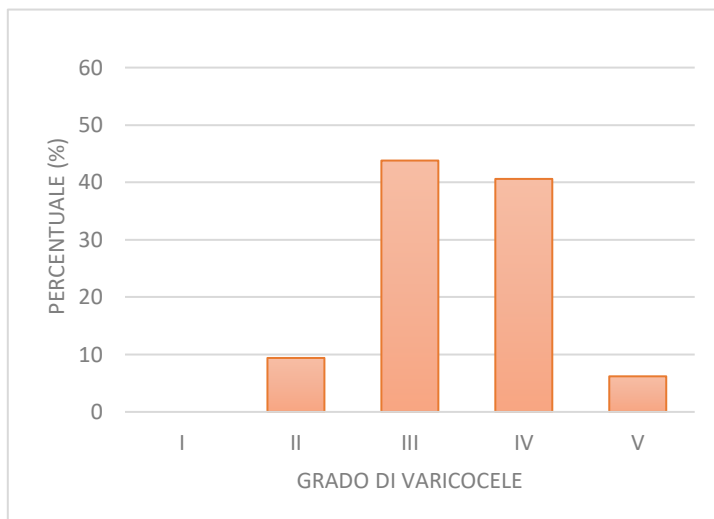
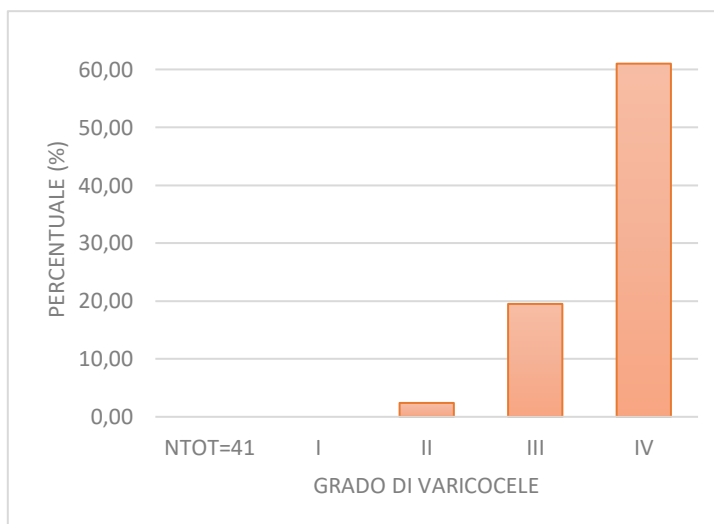


Figura 37b. Distribuzione percentuale del grado di varicocele pre-intervento nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti SA



La distribuzione per grado di varicocele precedente all'intervento nei due gruppi al basale differiva in modo statisticamente significativo ($p < 0.05$). La curva di distribuzione nel secondo gruppo era maggiormente spostata verso grado di varicocele IV/V. La percentuale di pazienti con varicocele bilaterale era 12.5% nel primo gruppo e 7.3% nel secondo gruppo.

In Tabella 13 sono riportati i parametri ecografici e di perfusione nel gruppo di pazienti sottoposti a sclerosi retrograda e nel gruppo di pazienti sottoposto a sclerosi anterograda.

Tabella 13. Parametri ecografici e parametri di perfusione testicolare con mezzo di contrasto prima dell'intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR e nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA.

	SA	SR	p-value
Volume sn (cc)	13.3 ± 3.6 (43.8%)	11.7 ± 3.6 (56.1%)	0.075
Volume dx (cc)	15.3 ± 4.2 (18.8%)	14.0 ± 4.1 (24.4%)	0.168
Volume bitesticolare (cc)	28.6 ± 7.0	25.7 ± 7.1	0.084
TTP sn (s)	28.7 ± 11.1	23.0 ± 8.9	0.026
MTT sn (s)	36.7 ± 8.3 (53.1%)	42.1 ± 13.3 (71.0%)	0.057
Wash-in sn (s)	13.7 ± 4.5	13.5 ± 6.0	0.902
Wash-out sn (s)	23.4 ± 5.7	29.8 ± 9.4	0.002
TTP dx (s)	23.7 ± 8.5	20.0 ± 6.6	0.012
MTT dx (s)	33.3 ± 8.9 (28.1%)	35.9 ± 11.2 (45.2%)	0.305
Wash-in dx (s)	11.1 ± 2.7	11.9 ± 5.5	0.456
Wash-out dx (s)	22.6 ± 8.4	24.1 ± 9.2	0.506

*% = percentuale di pazienti con valori alterati
(valori di riferimento: volume testicolare ≥ 12 cc, MTT ≤ 36s)

Abbreviazioni:

SR: sclerotizzazione retrograda

SA: sclerotizzazione anterograda

TTP: time to peak

MTT: mean transit time

Nel primo gruppo i volumi testicolari erano all'interno del range di normalità, mentre si osservava un MTT sinistro poco sopra il limite, con un valore medio di 36.7 ± 8.3 s. Nel secondo gruppo il volume testicolare destro era nei limiti di norma, mentre il volume testicolare sinistro (11.7 ± 3.6 cc) e l'MTT sinistro (42.1 ± 13.3 s) risultavano alterati. I due sottogruppi non differivano in maniera statisticamente significativa per volume testicolare bilaterale, MTT sinistro, tempo di wash-in sinistro, TTP destro, MTT destro e tempi di wash-in e wash-out destri. Era presente invece una differenza statisticamente significativa per il TTP sinistro (p = 0.026), per il tempo di wash-out sinistro (p = 0.002) e per il TTP destro (p = 0.012).

3.2 Analisi dei dati post-intervento

In Tabella 14, Tabella 15 e Tabella 17 è riportato il confronto tra i dati precedenti all'intervento e i dati di follow-up nel campione generale. Viene indicato nell'ultima colonna il confronto tra i due gruppi attraverso il p-value calcolato con il t-test.

3.2.1 *Analisi dei dati sul campione generale*

3.2.1.1 *Valori ormonali*

Tabella 14. Confronto tra i valori ormonali pre- e post- intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
FSH (U/l)	7.8 ± 6.9 (37.0)	7.1 ± 5.9 (30.8)	0.522
LH (U/l)	6.1 ± 3.5 (19.2)	6.1 ± 3.6 (12.5)	0.953
Testosterone (nmol/l)	16.4 ± 6.1 (15.1)	17.4 ± 5.3 (3.1)	0.271
Estradiolo (pmol/l)	78.1 ± 35.4 (8.2)	89.1 ± 30.4 (6.3)	0.053
Prolattina (ng/ml)	13.8 ± 7.0 (34.3)	12.9 ± 5.7 (26.6)	0.390

*% = percentuale di pazienti con valori alterati (valori di riferimento: FSH ≤ 8 U/l; LH ≤ 8 U/l; testosterone 9,7-38,2 nmol/l; estradiolo 37-132 pmol/l; prolattina 5-15 ng/ml)

Abbreviazioni:

U: unità internazionali

FSH: ormone follicolo-stimolante

LH ormone luteinizzante

Confrontando i valori ormonali prima e dopo l'intervento nel campione generale, non si osservava nessun cambiamento statisticamente significativo. Tuttavia, il numero di pazienti con ridotti livelli di testosterone passava dal 15.1% al 3.1%, mentre il numero di pazienti con gonadotropine elevate passava dal 37.0% al 30.8% per l'FSH e dal 19.2% al 12.5% per l'LH.

3.2.1.2 Parametri seminali

Tabella 15. Confronto tra i parametri seminali pre- e post- intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
Volume seminale (ml)	2.8 ± 1.7 (19.2)	2.8 ± 1.7 (12.3)	0.984
pH	7.5 ± 0.2 (5.5)	7.5 ± 0.2 (1.5)	0.274
Conc. spermatica (mil/ml)	15.1 ± 17.7 (67.1)	26.6 ± 29.4 (41.5)	0.007
N. Spermatozoi totali (mil)	39.1 ± 54.5 (69.9)	70.3 ± 90.6 (47.7)	0.017
Motilità progressiva %	36.9 ± 20.7 (43.8)	42.5 ± 18.1 (29.2)	0.093
Motilità non progressiva %	9.9 ± 7.8 (45.2)	10.3 ± 7.3 (43.1)	0.779
Motilità totale %	46.8 ± 21.0 (37.0)	52.7 ± 19.2 (24.6)	0.087
N. Spermatozoi mobili (mil)	21.4 ± 35.2 (67.1)	43.2 ± 64.8 (43.1)	0.017
Spermatozoi immobili %	53.2 ± 21.0	47.3 ± 19.2	0.084
Vitalità %	78.3 ± 11.8 (6.9)	79.8 ± 9.7 (4.6)	0.411
Forme tipiche %	7.2 ± 6.2 (20.6)	8.4 ± 6.0 (10.8)	0.263

***% = percentuale di pazienti con valori alterati**

(valori di riferimento: volume seminale ≥ 1,5 ml, pH 7,2-8,0; concentrazione spermatica ≥ 15 mil/ml; spermatozoi totali ≥ 40 milioni; motilità totale ≥ 40%; spermatozoi mobili ≥ 16 milioni; vitalità ≥ 58%; forme tipiche ≥ 4%)

Abbreviazioni:

mil: milioni

Confrontando i valori dei parametri seminali prima e dopo l'intervento nel campione generale, si osservava un miglioramento statisticamente significativo della concentrazione spermatica, della conta spermatica totale e del numero di spermatozoi mobili totali ($p < 0.05$). Il numero di pazienti oligozoospermici passava dal 69.9% al 47.7%. Nonostante il valore medio della motilità totale non aumentasse in modo significativo, la percentuale di pazienti con astenozoospermia passava dal 37.0% al 24.6%. Il tasso di positività al MAR test nel campione generale dopo l'intervento passava dall'8.2% al 15.4%.

3.2.1.3 Parametri ecografici

In Figura 38 viene riportata la distribuzione percentuale dei pazienti in base al grado di varicocele dopo l'intervento nel campione generale. In Tabella 16 è riportato il confronto tra la distribuzione dei pazienti in base al grado di varicocele prima e dopo l'intervento.

Figura 38. Distribuzione percentuale dei pazienti in base al grado di varicocele post-intervento nei N=73 pazienti con varicocele

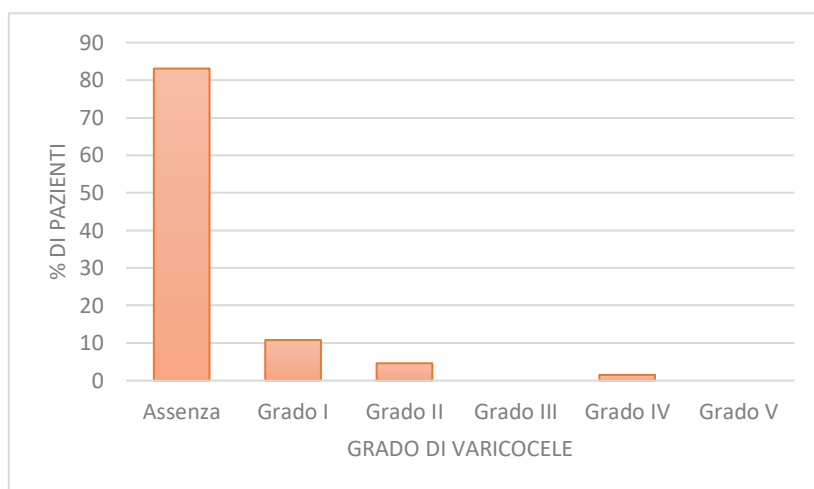


Tabella 16. Confronto tra la distribuzione del grado di varicocele pre- e post- intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>Pre (%)</i>	<i>Post (%)</i>
Assenza di varicocele	0/73 (0%)	62/73 (84.9%)
Grado I	0/73 (0%)	7/73 (9.6%)
Grado II	4/73 (5.5%)	3/73 (4.1%)
Grado III	22/73 (30.1%)	0/73 (0%)
Grado IV	38/73 (52.1%)	1/73 (1.4%)
Grado V	9/73 (12.3%)	0/73 (0%)

Il tasso di recidiva di varicocele sinistro nel campione generale era del 16.9%. Tutti i pazienti andati incontro a recidiva avevano comunque una riduzione del grado in seguito all'intervento di scleroembolizzazione. La percentuale di pazienti andati incontro a un miglioramento complessivo del grado di varicocele sinistro era quindi del 100% ($p < 0.001$). La percentuale di pazienti con varicocele destro scendeva dal 9.6% al 6.2%.

Tabella 17. Confronto tra i parametri ecografici e i parametri di perfusione testicolare con mezzo di contrasto pre- e post- intervento nei N=73 pazienti con varicocele

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
Volume sn (cc)	12.4 ± 3.7 (50.7)	12.6 ± 3.7 (47.7)	0.724
Volume dx (cc)	14.6 ± 4.2 (21.9)	14.9 ± 4.1 (21.5)	0.868
Volume bitesticolare (cc)	27.0 ± 7.2	27.5 ± 7.2	0.668
TTP sn (s)	25.9 ± 10.4	27.2 ± 10.1	0.502
MTT sn (s)	39.4 ± 11.3 (61.9)	32.6 ± 8.3 (21.5)	<0.001
Wash-in sn (s)	13.6 ± 5.3	12.1 ± 4.0	0.039
Wash-out sn (s)	26.5 ± 8.3	23.5 ± 6.6	0.027
TTP dx (s)	22.3 ± 7.3	23.4 ± 7.6	0.419
MTT dx (s)	34.6 ± 10.1 (38.1)	28.7 ± 7.3 (16.4)	<0.001
Wash-in dx (s)	11.5 ± 4.3	10.7 ± 3.7	0.305
Wash-out dx (s)	23.4 ± 8.7	19.6 ± 6.1	0.007

***% = percentuale di pazienti con valori alterati**

(valori di riferimento: volume testicolare ≥ 12 cc, MTT ≤ 36s)

Abbreviazioni:

TTP: time to peak

MTT: mean transit time

Confrontando i valori dei parametri ecografici prima e dopo l'intervento nel campione generale, si osservava un miglioramento statisticamente significativo di MTT, wash-in e wash-out sinistro (p rispettivamente <0.001, <0.05 e <0.05), e di MTT destro e wash-out destro (p rispettivamente <0.001 e <0.01).

La percentuale di pazienti con ipotrofia testicolare sinistra scendeva dal 50.7% al 47.7%, mentre la percentuale di pazienti con ipotrofia testicolare destra rimaneva invariata. La percentuale di pazienti con MTT sinistro superiore al cut-off, indicativo di un rallentamento della perfusione del microcircolo testicolare, scendeva dal 61.9% al 21.5%.

3.2.2 Parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare

In questo paragrafo vengono mostrati i dati relativi ai parametri predittivi basali di miglioramento della funzione testicolare dopo l'intervento, intesa come incremento dei parametri seminali (conta spermatica totale, concentrazione spermatica, numero di spermatozoi mobili totali). Non è stata riscontrata alcuna correlazione significativa tra il grado di varicocele prima dell'intervento e la variazione percentuale dei parametri seminali, ormonali ed ecografici in seguito al trattamento.

3.2.2.1 *Variazione di conta spermatica totale*

Si osservava una correlazione positiva tra l'età all'intervento, valori basali di FSH e LH e di MTT sinistro basale in rapporto alla variazione percentuale di spermatozoi totali dopo l'intervento (Figure 39, Figure 40a e 40b, Figura 41). Correlavano in modo significativo con l'aumento di spermatozoi totali anche i valori basali di wash-out sinistro, TTP destro e wash-in destro ($p < 0.01$).

Figura 39. Correlazione tra età all'intervento e variazione % di conta spermatica totale nei N=73 pazienti con varicocele

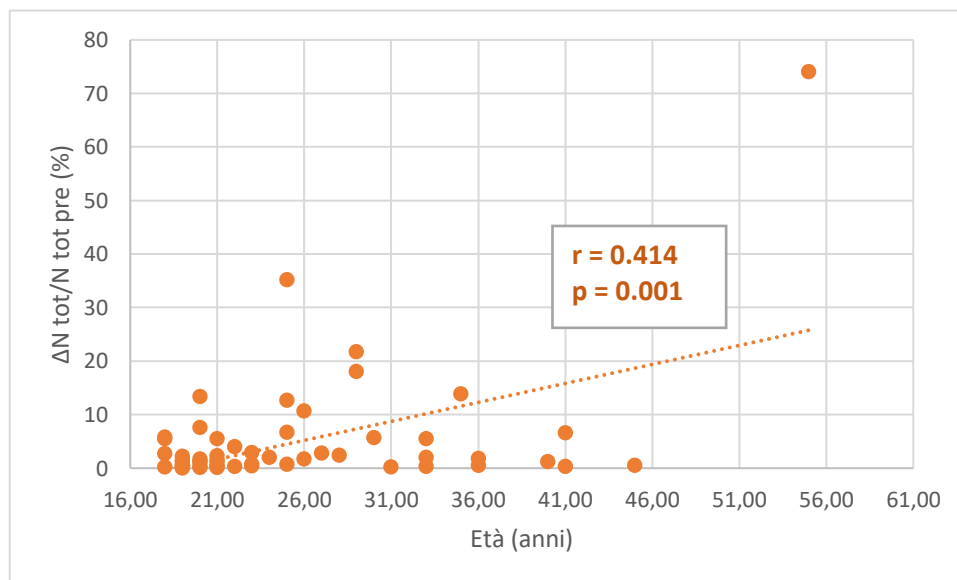


Figura 40a. Correlazione tra FSH basale e variazione % di conta spermatica totale nei N=73 pazienti con varicocele

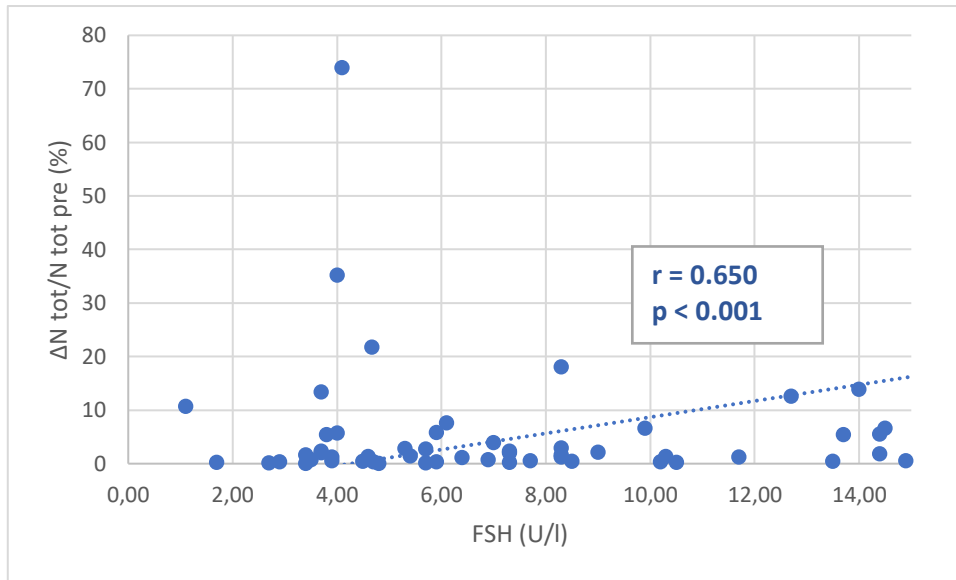


Figura 40b. Correlazione tra LH basale e variazione % di conta spermatica totale nei N=73 pazienti con varicocele

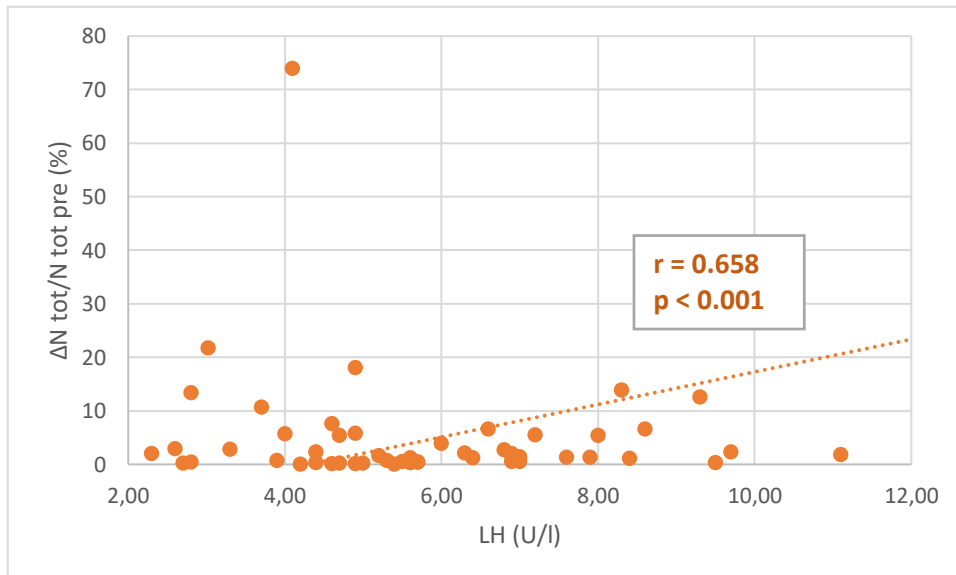
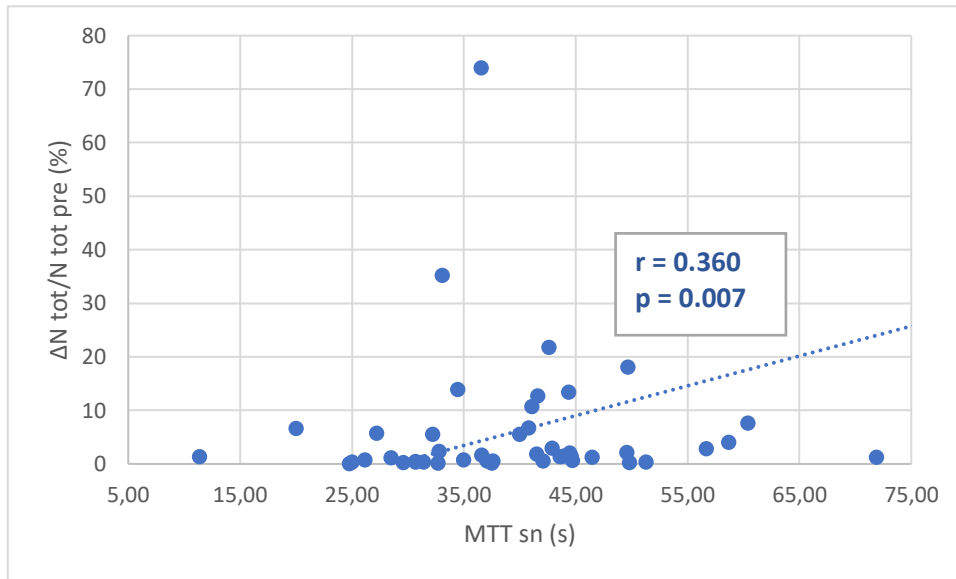
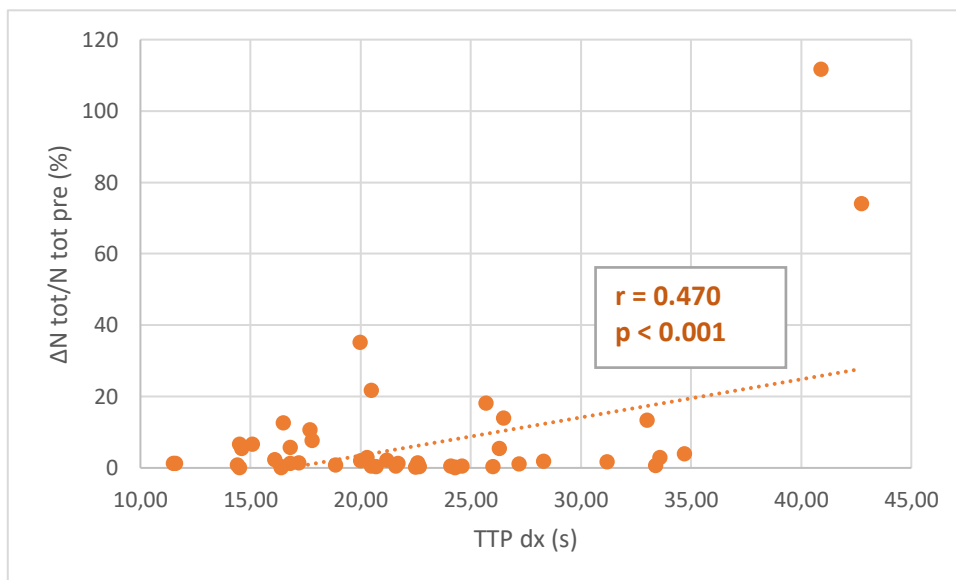


Figura 41. Correlazione tra MTT sinistro basale e variazione % di conta spermatica totale in N=73 pazienti con varicocele



Eseguendo un'analisi di regressione lineare stepwise, si individuavano come parametri predittivi indipendenti di variazione percentuale nel numero totale di spermatozoi l'età all'intervento ($p=0.003$), il valore basale di LH ($p<0.001$) e il valore basale di TTP destro ($p=0.025$). Riportiamo in Figura 42 la correlazione tra TTP destro e variazione percentuale del numero di spermatozoi.

Figura 42. Correlazione tra TTP destro basale e variazione % di conta spermatica totale nei N=73 pazienti con varicocele



Un ulteriore parametro predittivo indipendente di miglioramento della funzione testicolare era il tipo di intervento ($p=0.024$). Si osservava una variazione percentuale del numero di spermatozoi totali significativamente maggiore nei pazienti sottoposti a SA rispetto ai pazienti sottoposti a SR.

3.2.2.2 Variazione di spermatozoi mobili totali

I valori basali di FSH, LH e MTT sinistro correlavano in modo significativo con la variazione del numero di spermatozoi mobili totali ($p<0.05$), come mostrato in Figura 43, 44 e 45.

Figura 43. Correlazione tra FSH basale e variazione % di spermatozoi mobili totali nei N=73 pazienti con varicocele

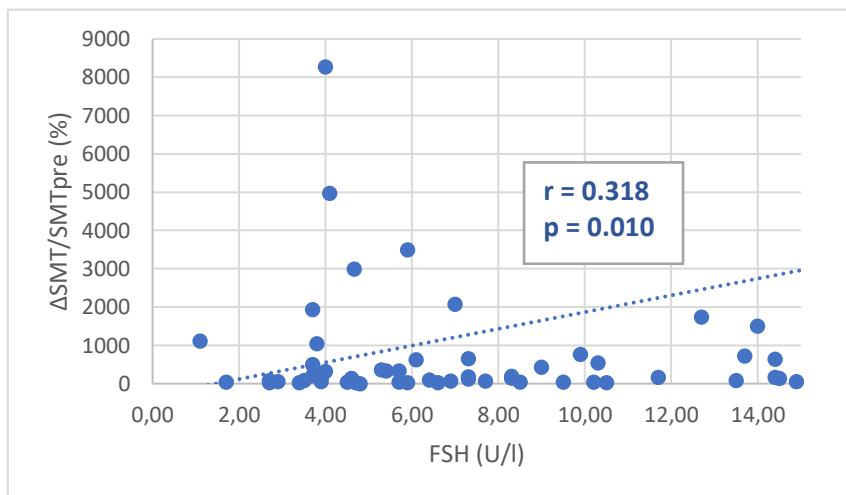


Figura 44. Correlazione tra LH basale e variazione % di spermatozoi mobili totali nei N=73 pazienti con varicocele

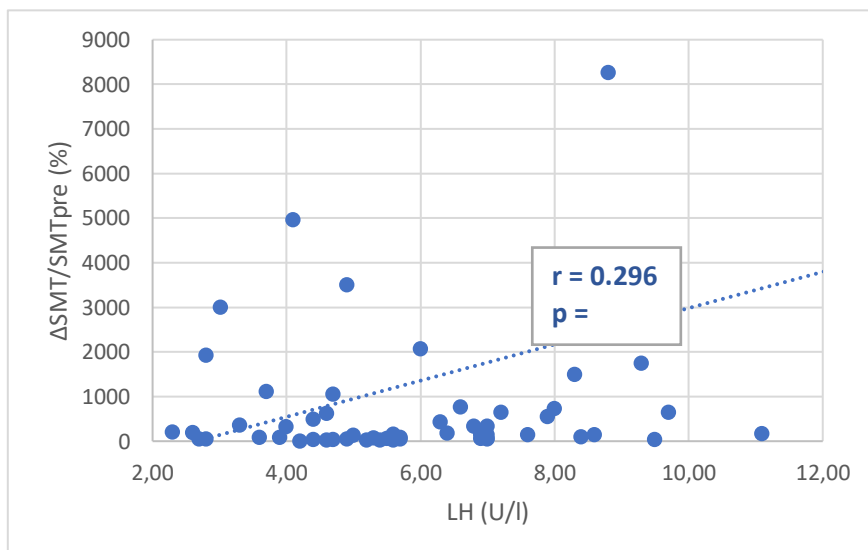
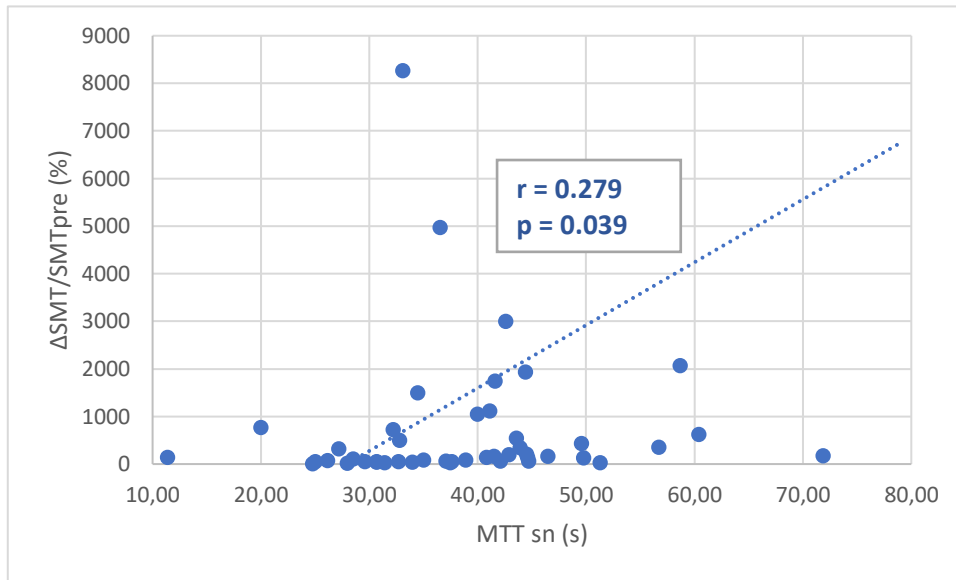


Figura 45. Correlazione tra MTT sinistro basale e variazione % di spermatozoi mobili totali nei N=73 pazienti con varicocele



Eseguendo un'analisi di regressione lineare stepwise, il valore di FSH basale risultava essere l'unico parametro predittivo indipendente di miglioramento del numero di spermatozoi mobili totali ($p=0.015$).

3.2.3 Analisi dei dati per parametri seminali basali

Dividendo il campione per valori basali di concentrazione e conta spermatica, la differenza di variazione percentuale della concentrazione spermatica, del numero totale di spermatozoi e del numero di spermatozoi mobili totali risultava statisticamente significativa. Riportiamo i dati e il p-value calcolato con t-test in Tabella 18 e Tabella 19.

Tabella 18. Confronto della variazione % dei parametri seminali quantitativi nei gruppi con concentrazione basale <math><15\text{mil/ml}</math> (N=40) e concentrazione basale >math>>15\text{mil/ml}</math> (N=25).

	<i>media ± SD</i> (<i>conc. basale</i> <math><15\text{mil/ml}</math>)	<i>media ± SD</i> (<i>conc. basale</i> >math>>15\text{mil/ml}</math>)	<i>p-value</i>
Δ Concentrazione %	707.3 ± 1353.1	32.5 ± 96.8	0.003
Δ N. Spermatozoi totali %	969.6 ± 2100.7	38.3 ± 97.2	0.008
Δ N. Spermatozoi mobili %	2232.6 ± 6322.1	46.7 ± 98.7	0.035

Abbreviazioni:
SD deviazione standard

MTT: mean transit time

Tabella 19. Confronto della variazione % dei parametri seminali quantitativi nei gruppi con conta basale <mil/ml (N=44) e conta basale >mil/ml (N=20).

	<i>media ± SD</i> (<i>conta basale <40 mil</i>)	<i>media ± SD</i> (<i>conta basale >40 mil</i>)	<i>p-value</i>
Δ Concentrazione %	647.8 ± 1302.9	28.6 ± 97.5	0.003
Δ N. Spermatozoi totali %	886.9 ± 2018.2	34.3 ± 96.2	0.008
Δ N. Spermatozoi mobili %	2033.6 ± 6054.5	47.4 ± 97.2	0.035

Abbreviazioni:

SD deviazione standard

MTT: mean transit time

In particolare, i pazienti con valore basale di concentrazione spermatica basale <15 milioni/ml e valore basale di conta spermatica <40 milioni mostravano un aumento percentuale post-sclerosi della concentrazione spermatica, della conta spermatica totale e del numero totale di spermatozoi mobili significativamente più elevato rispetto ai pazienti con valore basale di concentrazione spermatica basale >15 milioni/ml e valore basale di conta spermatica >40 milioni.

3.2.4 Analisi dei dati per stato di perfusione

Dividendo il campione per valori basali di MTT sinistro minori o maggiori di 32.0 s, la differenza di variazione percentuale della concentrazione spermatica e del numero totale di spermatozoi risultava statisticamente significativa. Riportiamo i dati e il p-value calcolato con t-test in Tabella 20.

Tabella 20. Confronto della variazione % dei parametri seminali quantitativi nei gruppi con MTT basale <32s (N=11) e MTT basale >32s (N=44).

	<i>media ± SD</i> (<i>MTT sn basale <32s</i>)	<i>media ± SD</i> (<i>MTT sn basale >32s</i>)	<i>p-value</i>
Δ Concentrazione %	57,9 ± 154,7	611,9 ± 1314,11	0,009
Δ Spermatozoi totali %	145,7 ± 235,7	821,9 ± 2038,2	0,037
Δ Spermatozoi mobili %	139,6 ± 223,9	1896,4 ± 6073,8	0,062

Abbreviazioni:

SD deviazione standard

MTT: mean transit time

In particolare, i pazienti con valore basale di MTT sinistro >32.0 s mostravano un aumento percentuale della concentrazione spermatica e della conta spermatica totale significativamente più elevato rispetto ai pazienti con valore basale di MTT sinistro <32.0 s. Anche l'aumento percentuale degli spermatozoi mobili totali nei pazienti con valore basale di MTT sinistro >32.0 s mostrava un trend di miglioramento pur non raggiungendo la significatività statistica.

3.2.5 *Analisi dei dati per tipo di intervento*

3.2.5.1 *Valori ormonali*

In Tabella 21 e Tabella 22 è riportato il confronto tra i valori ormonali prima e dopo l'intervento nei soggetti sottoposti rispettivamente a SR e a SA.

Tabella 21. Confronto tra i valori ormonali pre- e post- intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR.

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
FSH (U/l)	7.5 ± 3.6 (40.6%)	6.6 ± 3.5 (33.3%)	0.342
LH (U/l)	5.9 ± 2.0 (12.5%)	5.6 ± 2.6 (16.7%)	0.680
Testosterone (nmol/l)	15.7 ± 6.1 (15.6%)	16.4 ± 6.2 (8.3%)	0.687
Estradiolo (pmol/l)	70.8 ± 33.7 (3.1%)	79.4 ± 29.9 (4.2%)	0.319
Prolattina (ng/ml)	14.9 ± 7.5 (40.6%)	14.0 ± 7.0 (45.8%)	0.649

Tabella 22. Confronto tra i valori ormonali pre- e post- intervento nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA.

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
FSH (U/l)	8.0 ± 8.7 (31.7%)	7.4 ± 7.0 (10.0%)	0.722
LH (U/l)	6.2 ± 4.3 (12.2%)	6.4 ± 4.0 (10.0%)	0.848
Testosterone (nmol/l)	16.9 ± 6.1 (14.6%)	18.0 ± 4.7 (0%)	0.287
Estradiolo (pmol/l)	83.8 ± 36.1 (12.2%)	94.9 ± 29.6 (7.5%)	0.134
Prolattina (ng/ml)	13.0 ± 6.6 (24.4%)	12.2 ± 4.8 (17.5%)	0.548

*% = percentuale di pazienti con valori alterati (valori di riferimento: FSH \leq 8 U/l; LH \leq 8 U/l; testosterone 9,7-38,2 nmol/l; estradiolo 37-132 pmol/l; prolattina 5-15 ng/ml)

Abbreviazioni:

U: unità internazionali

FSH: ormone follicolo-stimolante

LH ormone luteinizzante

A sei mesi dall'intervento di sclerosi non era presente un cambiamento statisticamente significativo per FSH, LH, testosterone, estradiolo e prolattina in entrambi i sottogruppi.

3.2.5.2 Parametri seminali

Tabella 23. Confronto tra i parametri seminali pre- e post- intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR

	Pre (%*)	Post (%*)	p-value
Volume seminale (ml)	3.0 \pm 1.6 (9.4%)	2.9 \pm 1.4 (4.2%)	0.777
pH	7.5 \pm 0.2 (3.1%)	7.5 \pm 0.2 (0%)	0.706
Conc. spermatica (mil/ml)	15.7 \pm 21.0 (68.8%)	31.7 \pm 39.6 (41.7%)	0.082
N. Spermatozoi totali (mil)	42.3 \pm 51.7 (65.6%)	79.8 \pm 87.1 (45.8%)	0.069
Motilità progressiva %	38.5 \pm 22.6	38.5 \pm 20.7	0.996
Motilità non progressiva %	10.5 \pm 8.9	11.5 \pm 9.3	0.695
Motilità totale %	49.1 \pm 22.9 (34.4%)	50.0 \pm 21.0 (25.0%)	0.874
N. Spermatozoi mobili (mil)	23.9 \pm 34.2 (65.6%)	50.3 \pm 69.0 (45.8%)	0.095
Spermatozoi immobili %	50.9 \pm 22.9	50.0 \pm 21.0	0.874
Vitalità %	78.7 \pm 12.8 (9.4%)	80.3 \pm 9.5 (4.2%)	0.584
Forme tipiche %	5.2 \pm 4.0 (28.1%)	6.4 \pm 3.6 (16.7%)	0.261
Tunel test %	86.6 \pm 6.8 (17.7%)	91.7 \pm 4.6 (0%)	0.002
Orange di acridina %	84.3 \pm 5.8 (0%)	89.0 \pm 4.1 (0%)	0.001
FISH 18XY %	0.8 \pm 0.2 (17.7%)	0.8 \pm 0.2 (8.3%)	0.233
FISH 18,13,21 %	1,1 \pm 0.2 (61.8%)	0.9 \pm 0.2 (25.0%)	0.004

*% = percentuale di pazienti con valori alterati

(valori di riferimento: volume seminale \geq 1,5 ml, pH 7,2-8,0; concentrazione spermatica \geq 15 mil/ml; N. spermatozoi totali \geq 40 milioni; motilità totale \geq 40%; N. spermatozoi mobili \geq 16 milioni; vitalità \geq 58%; forme tipiche \geq 4%, tunel test \geq 80%, arancio di acridina \geq 70%, FISH 18XY \leq 1%, FISH 18,13,21 \leq 1%)

Abbreviazioni:

mil: milioni

NA: non applicabile

Tabella 24. Confronto tra i parametri seminali pre- e post- intervento nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA.

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
Volume seminale (ml)	2.7 ± 1.8 (26.8%)	2,8 ± 1,9 (17.1%)	0,789
pH	7.5 ± 0.2 (7.3%)	7,8 ± 1,8 (2.4%)	0,296
Conc. spermatica (mil/ml)	14.6 ± 14.8 (63.4%)	23,6 ± 21,3 (41.5%)	0,029
N. Spermatozoi totali (mil)	36.5 ± 57.1 (70.7%)	64,7 ± 93,2 (48.8%)	0,104
Motilità progressiva %	35.6 ± 19.4	44,8 ± 16,3	0,022
Motilità non progressiva %	9.5 ± 6.9	9,6 ± 5,9	0,932
Motilità totale %	45.0 ± 19.5 (39.0%)	54,4 ± 18,2 (24.4%)	0,029
N. Spermatozoi mobili (mil)	19.3 ± 36.3 (68.3%)	39,0 ± 62,7 (41.5%)	0,087
Spermatozoi immobili %	55.0 ± 19.5	45,6 ± 18,2	0,028
Vitalità %	77.9 ± 11.1 (4.9%)	79,4 ± 9,9 (4.9%)	0,517
Forme tipiche %	8.7 ± 7.1 (14.6%)	9,5 ± 6,8 (7.3%)	0,612

***% = percentuale di pazienti con valori alterati**

(valori di riferimento: volume seminale ≥ 1,5 ml, pH 7,2-8,0; concentrazione spermatica ≥ 15 mil/ml; N. spermatozoi totali ≥ 40 milioni; motilità totale ≥ 40%; N. spermatozoi mobili ≥ 16 milioni; vitalità ≥ 58%; forme tipiche ≥ 4%)

Abbreviazioni:

mil: milioni

In Tabella 23 e in Tabella 24 è riportato il confronto tra i parametri seminali prima e dopo l'intervento nei due sottogruppi. Tutti i valori medi dei parametri seminali dopo l'intervento rientravano nei limiti di norma. Nel primo gruppo si assisteva a un miglioramento statisticamente significativo delle aneuploidie spermatiche e della frammentazione del DNA spermatico. Nel secondo gruppo miglioravano in modo significativo la concentrazione spermatica e la motilità progressiva ($p < 0.05$). Non erano disponibili nel secondo gruppo i dati relativi ai cromosomi spermatici e alla frammentazione del DNA spermatico.

Il MAR test al follow-up rivelava la presenza di anticorpi anti-spermatozoi nel 4.2% dei casi nel gruppo 1 (vs 9.4% pre-trattamento) e nel 22.0% dei casi nel gruppo 2 (vs 7.3% pre-trattamento). La tecnica di scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber sembrava quindi associarsi a un maggior tasso di sviluppo di anticorpi anti-spermatozoi.

In Tabella 25 è riportato il confronto tra le variazioni percentuali dei parametri seminali nel gruppo di pazienti sottoposto a SR e nel gruppo di pazienti sottoposto a SA.

Tabella 25. Confronto tra le variazioni percentuali dei parametri seminali pre- e post-intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR e nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA.

	<i>SR</i>	<i>SA</i>	<i>p-value</i>
Δ Volume seminale %	7.8 ± 37.5	40.3 ± 124.6	0.127
Δ pH %	0.3 ± 2.8	0.3 ± 3.2	0.962
Δ Conc. spermatica %	624.5 ± 1552.1	344.4 ± 742.3	0.413
Δ N. Spermatozoi totali %	586.6 ± 1508.2	625.9 ± 1825.7	0.926
Δ Motilità progressiva %	10.6 ± 41.2	175.3 ± 660.6	0.119
Δ Motilità non progressiva %	97.8 ± 226.4	70.0 ± 217.4	0.630
Δ Motilità totale %	16.2 ± 51.8	85.1 ± 289.7	0.145
Δ N. Spermatozoi mobili %	543.8 ± 1061.4	1888.3 ± 6283.4	0.188
Δ Spermatozoi immobili %	1.8 ± 32.6	-1.8 ± 35.9	0.125
Δ Vitalità %	3.3 ± 18.4	3.6 ± 16.4	0.944
Δ Forme tipiche %	41.9 ± 78.0	45.5 ± 135.7	0.890

Abbreviazioni:

SR: sclerotizzazione retrograda

SA: sclerotizzazione anterograda

SD: deviazione standard

3.2.5.3 Parametri ecografici

In Tabella 26 e Tabella 27 è riportato il confronto tra i parametri ecografici prima e dopo l'intervento nei due sottogruppi.

Tabella 26. Confronto tra i parametri ecografici e i parametri di perfusione testicolare con mezzo di contrasto pre- e post- intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR.

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
Volume sn (cc)	13.3 ± 3.6 (43.8%)	13.9 ± 3.6 (37.5%)	0.542
Volume dx (cc)	15.3 ± 4.2 (18.8%)	15.7 ± 4.2 (16.7%)	0.768
TTP sn (s)	28.7 ± 11.1	30.9 ± 11.7	0.482
MTT sn (s)	36.7 ± 8.3 (53.1%)	31.5 ± 6.3 (20.8%)	0.011
Wash-in sn (s)	13.7 ± 4.5	12.1 ± 3.2	0.125
Wash-out sn (s)	23.4 ± 5.7	21.2 ± 4.9	0.133
TTP dx (s)	24.5 ± 7.4	25.9 ± 8.7	0.537
MTT dx (s)	33.3 ± 8.9 (28.1%)	28.3 ± 6.9 (8.3%)	0.021
Wash-in dx (s)	11.1 ± 2.7	10.3 ± 2.3	0.238
Wash-out dx (s)	22.6 ± 8.4	18.5 ± 4.5	0.021

Tabella 27. Confronto tra i parametri seminali e i parametri di perfusione testicolare con mezzo di contrasto pre- e post- intervento nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA.

	<i>Pre (%*)</i>	<i>Post (%*)</i>	<i>p-value</i>
Volume sn (cc)	11.7 ± 3.6 (56.1%)	11.9 ± 3.7 (53.7%)	0.830
Volume dx (cc)	14.0 ± 4.1 (24.4%)	14.1 ± 4.5 (24.4%)	0.878
TTP sn (s)	23.0 ± 8.9	24.3 ± 7.6	0.540
MTT sn (s)	42.1 ± 13.3 (71%)	33.4 ± 9.7 (29%)	0.005
Wash-in sn (s)	13.5 ± 6.0	12.1 ± 4.6	0.317
Wash-out sn (s)	29.8 ± 9.4	25.2 ± 7.2	0.034
TTP dx (s)	20.0 ± 6.6	21.5 ± 6.4	0.362
MTT dx (s)	35.9 ± 11.2 (45.2%)	29.0 ± 7.7 (22.6%)	0.007
Wash-in dx (s)	11.9 ± 5.5	11.1 ± 4.5	0.516
Wash-out dx (s)	24.1 ± 9.2	20.4 ± 7.1	0.081

*% = percentuale di pazienti con valori alterati

(valori di riferimento: volume testicolare ≥ 12 cc, MTT ≤ 36s)

Abbreviazioni:

SR: sclerotizzazione retrograda

SA: sclerotizzazione anterograda

TTP: time to peak
MTT: mean transit time

Tutti i valori medi dei parametri ecografici dopo l'intervento rientravano nei limiti di norma. Nel primo gruppo si assisteva a un miglioramento statisticamente significativo dei tempi MTT sinistro, MTT destro e wash-out destro. Nel secondo gruppo miglioravano invece in modo significativo i tempi MTT sinistro, wash-out sinistro e MTT destro. In entrambi i sottogruppi si assisteva a un miglioramento dello stato di perfusione testicolare. Il tasso di recidiva di varicocele sinistro era del 16.7% nel sottogruppo di pazienti sottoposti a scleroembolizzazione retrograda e del 17.1% nel sottogruppo di pazienti sottoposti a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber.

Riportiamo nella Tabella 28 il confronto tra le variazioni percentuali dei parametri ecografici nei due sottogruppi.

Tabella 28. Confronto tra le variazioni percentuali dei parametri ecografici e i parametri di perfusione testicolare con mezzo di contrasto pre- e post- intervento nei N=32 pazienti con varicocele sottoposti a SR e nei N=41 pazienti con varicocele sottoposti a SA.

	<i>SR</i>	<i>SA</i>	<i>p-value</i>
Δ Volume sn %	1.8 ± 4.7	1.8 ± 9.9	0.974
Δ Volume dx %	2.4 ± 6.8	3.9 ± 9.0	0.459
Δ TTP sn %	8.8 ± 29.0	7.7 ± 8.8	0.855
Δ MTT sn %	-13.2 ± 15.6	-19.1 ± 10.3	0.115
Δ Wash-in sn %	-8.0 ± 19.9	-7.6 ± 9.2	0.937
Δ Wash-out sn %	-9.1 ± 15.0	-14.2 ± 8.9	0.149
Δ TTP dx %	5.1 ± 20.7	9.0 ± 10.1	0.403
Δ MTT dx %	-14.0 ± 14.8	-17.7 ± 7.9	0.268
Δ Wash-in dx %	-5.4 ± 18.8	-4.0 ± 13.4	0.750
Δ Wash-out dx %	-14.5 ± 17.2	-13.8 ± 8.4	0.853

Abbreviazioni:

SR: sclerotizzazione retrograda

SA: sclerotizzazione anterograda

TTP: time to peak

MTT: mean transit time

4. DISCUSSIONE

Il trattamento del varicocele come terapia dell'infertilità maschile è ancora oggetto di discussione nella comunità scientifica. Infatti, è noto come in molti pazienti la presenza di ectasie del plesso pampiniforme non abbia alcun impatto sulla fertilità (70). Le evidenze scientifiche degli ultimi anni dimostrano come il trattamento del varicocele si traduca in un miglioramento dei parametri seminali e del tasso di gravidanza spontanea solo quando preceduto da un'appropriata selezione dei pazienti (71, 72, 73). Il lavoro di review e metanalisi di Crestani et al (74) fornisce un alto livello di evidenza in favore di un effetto benefico del trattamento del varicocele sui parametri seminali convenzionali solo nei pazienti infertili con varicocele clinico. Al contrario, lo studio di Grasso et al (75) ha esaminato 68 pazienti con varicocele sinistro sublinico indirizzati in modo randomizzato al trattamento chirurgico con tecnica di Palomo o al non trattamento, senza differenze statisticamente significative tra i due gruppi in termini di miglioramento dei parametri seminali e di tasso di gravidanza spontanea. Risulta quindi di estrema importanza una corretta selezione dei pazienti da indirizzare all'intervento di correzione invasiva del varicocele, con l'obiettivo di raggiungere una maggiore omogeneità, confrontabilità e riproducibilità dei risultati degli studi scientifici (76). In accordo con i dati presenti in letteratura, i pazienti arruolati nel nostro studio sono stati selezionati rispettando le linee guida dell'Associazione Europea di Urologia (EAU) attualmente in vigore (18). I dati discussi di seguito devono essere interpretati tenendo conto di questo processo di selezione.

Le caratteristiche del nostro campione prima dell'intervento sono in accordo con i dati presenti in letteratura, che dimostrano come i pazienti con varicocele tendano ad avere parametri seminali e ormonali alterati rispetto ai soggetti maschi non affetti, seppur nella maggiorparte dei casi all'interno degli intervalli di riferimento WHO (77, 78, 79). I parametri ecografici evidenziavano un volume testicolare bilaterale nella norma e un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro. Lo studio delle anomalie cromosomiche e della frammentazione del DNA spermatico, eseguito solo nel sottogruppo di pazienti indirizzato al trattamento con scleroembolizzazione retrograda, mostrava una percentuale di anomalie cromosomiche dei cromosomi spermatici autosomici (FISH 18,13,21) di poco superiore alla norma con un valore medio di 1.1 ± 0.2 (valori normali $\leq 1\%$).

In seguito all'intervento di scleroembolizzazione, i pazienti del nostro studio andavano incontro a un miglioramento statisticamente significativo della concentrazione spermatica, del numero totale di spermatozoi, del numero totale di spermatozoi mobili e dei parametri perfusori bilaterali. La percentuale di pazienti oligozoospermici passava dal 69.9% al 47.7%, mentre la percentuale di pazienti ipogonadici passava dal 15.1% al 3.1%. La percentuale di pazienti con MTT sinistro >36s, indicativo di un rallentamento della perfusione del microcircolo testicolare, scendeva dal 61.9% al 21.5%. Il sottogruppo di pazienti sottoposto a scleroembolizzazione retrograda vedeva anche un miglioramento significativo dello stato di integrità del DNA spermatico. Non è stato possibile calcolare il tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento a causa dell'esiguo numero di pazienti alla ricerca di prole arruolati nel nostro studio. Tale dato sarebbe maggiormente indicativo del successo dell'intervento e andrà considerato negli sviluppi futuri della ricerca.

Dall'analisi del campione prima dell'intervento, si osservava una correlazione significativa tra età all'intervento e parametri seminali con una riduzione progressiva di concentrazione spermatica e motilità progressiva. Anche gli ormoni sessuali si modificavano in modo significativo in base all'età, con un aumento progressivo dei valori di FSH e una riduzione parallela dei livelli circolanti di testosterone. Questi risultati concordano con i dati in letteratura, che documentano una riduzione età-associata delle caratteristiche quantitative e qualitative del liquido seminale e della funzione endocrina del testicolo (80). Il fattore anagrafico maschile, quindi, spesso ritenuto secondario rispetto a quello della controparte femminile, andrebbe invece maggiormente considerato quando si valutano le potenzialità riproduttive della coppia. Dal nostro studio emerge anche una correlazione positiva tra età all'intervento e aumento percentuale del numero totale di spermatozoi dopo la correzione del varicocele. L'età all'intervento risultava inoltre essere un parametro predittivo indipendente di aumento del numero totale di spermatozoi. Tuttavia, nel nostro studio erano esclusi pazienti con grave testicolopatia. In questa popolazione una maggiore età anagrafica, non solo non sarebbe una controindicazione all'intervento, ma sembrerebbe associarsi a un maggior miglioramento della funzione testicolare in seguito alla sclerosi.

Anche i valori basali di concentrazione spermatica e conta spermatica totale risultavano essere due parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare dopo il trattamento. Infatti, si osservava una differenza statisticamente significativa della variazione percentuale di concentrazione, conta spermatica e numero di spermatozoi mobili totali tra il sottogruppo di pazienti con valori basali di concentrazione <15 milioni/ml e conta <40 milioni e il sottogruppo di pazienti con valori basali di concentrazione >15 milioni/ml e conta >40 milioni. In accordo con le linee guida EAU (18) attualmente vigenti, sembrerebbe quindi opportuno indirizzare al trattamento solo quei pazienti che presentano alterazioni dei parametri seminali.

Il nostro studio evidenziava anche una correlazione statisticamente significativa tra i valori basali di FSH e LH e la variazione percentuale di conta spermatica totale. Una correlazione significativa era presente anche tra i valori basali di FSH e LH e la variazione percentuale del numero di spermatozoi mobili totali. Quindi, all'aumentare dei valori basali di FSH e LH, compresi nel nostro caso nel range 0-15 U/l, si assisteva a un miglioramento più marcato della funzione spermatogenetica testicolare dopo l'intervento. Inoltre, il valore di FSH basale risultava essere l'unico parametro predittivo indipendente di miglioramento del numero di spermatozoi mobili totali. Il fatto che i livelli di FSH precedenti all'intervento possano essere un fattore predittivo di miglioramento della funzione testicolare non è un dato nuovo rispetto ai risultati disponibili in letteratura. Lo studio di Fesih et al (81) ha esaminato retrospettivamente 136 pazienti sottoposti a varicocelectomia chirurgica, osservando una correlazione significativa tra il valore basale di FSH e l'incremento del numero di spermatozoi mobili totali (TMSC) dopo l'intervento. Il valore basale di FSH risultava essere un parametro predittivo indipendente del successo della varicocelectomia, con un picco di incremento di TMSC per valore basale di FSH pari a 7.01 UI/l. Anche lo studio di Madhusoodanan et al (82) ha osservato una associazione tra il valore basale di FSH e la variazione dei parametri seminali dopo varicocelectomia chirurgica sottoinguinale. Valori inferiori di FSH precedenti all'intervento, in particolare se <11 UI/l, si associavano infatti a un maggiore incremento dei valori di TMSC. I dati emersi dal nostro studio sembrerebbero essere in contrasto con le evidenze disponibili in letteratura. Tuttavia, nella nostra popolazione erano stati preventivamente esclusi tutti quei pazienti con FSH elevato e testicolopatia grave. Questo potrebbe spiegare la correlazione positiva osservata tra FSH basale e incremento del numero totale di spermatozoi e del numero di spermatozoi mobili totali. I nostri dati quindi sembrano suggerire che valori basali aumentati di FSH, indicativi di uno stato di testicolopatia lieve secondaria al varicocele, siano predittivi di un maggior successo dell'intervento di sclerosi.

In relazione ai parametri ecografici, il valore pre-intervento di MTT sinistro correlava in modo significativo con il numero totale di spermatozoi, mentre il valore pre-intervento di wash-out sinistro correlava in modo significativo sia con il numero totale di spermatozoi sia con il numero totale di spermatozoi mobili. Il tempo di wash-out sinistro risultava essere un parametro predittivo indipendente di riduzione del numero totale di spermatozoi. Si osservava anche una correlazione tra il valore di MTT sinistro basale e l'incremento percentuale di conta spermatica totale e di spermatozoi mobili totali dopo l'intervento. Il valore di MTT basale, in particolare quando $>32s$, risultava predittivo di un aumento percentuale significativamente maggiore della concentrazione spermatica e della conta spermatica totale. Alla luce dei dati ecografici emersi dallo studio, risulterebbe opportuno consigliare l'intervento di scleroembolizzazione ai pazienti con un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro, in particolare quando in presenza di valori basali di MTT sinistro $> 32s$. Lo stato di perfusione testicolare e le eventuali alterazioni del microcircolo evidenziate con ecografia con mezzo di contrasto promettono quindi di essere un elemento rilevante per l'individuazione dei pazienti maggiormente a rischio di sviluppare alterazioni del liquido seminale e infertilità, e per la scelta dei pazienti da indirizzare al trattamento del varicocele. Ulteriori studi andranno effettuati per standardizzare questa metodica e valutare l'opportunità di inserire i parametri perfusori testicolari all'interno dei criteri delle linee guida.

Per quanto riguarda la correlazione tra grado di varicocele e impairment della funzione testicolare, sia spermatogenetica che endocrina, i dati disponibili in letteratura sono controversi. Lo studio multicentrico di Dasmgaard et al (78) ha preso in esame 7035 pazienti europei con diagnosi di varicocele sinistro e ha dimostrato un progressivo peggioramento dei parametri seminali e ormonali all'aumentare del grado clinico di varicocele. Il nostro studio non evidenziava nessuna correlazione statisticamente significativa tra il grado di varicocele misurato con tecnica ecocolor Doppler e le alterazioni dei parametri seminali, ormonali ed ecografici prima dell'intervento. Dai nostri dati, anche il miglioramento percentuale dei parametri seminali, ormonali ed ecografici in seguito all'intervento non era in alcun modo associato con il grado di varicocele pre-sclerosi. Questi dati contrastano con quelli dello studio di Morini et al (62), dove si assisteva a un miglioramento più significativo dei parametri seminali nei pazienti con varicocele di grado I-II rispetto ai pazienti con varicocele pre-intervento di grado III-IV. Dai risultati del nostro studio, il grado di varicocele alla diagnosi non sembra predire né le alterazioni della funzione testicolare basale né il miglioramento della funzione testicolare dopo l'intervento.

Il tasso di recidiva di varicocele sinistro a 6-12 mesi dall'intervento risultava essere del 16.9%, di poco superiore rispetto al tasso del 12.7% presente in letteratura (57). Non si osservavano complicanze in seguito all'intervento: in particolare nessuno dei pazienti del nostro studio sviluppava idrocele. Le tecniche endovascolari di correzione del varicocele si confermano quindi come un'opzione minimamente invasiva rispetto alle tecniche chirurgiche classiche, che presentano tassi di recidiva sovrapponibili e tassi di sviluppo di idrocele significativamente maggiori (rispettivamente 15.0% e 8.2% per le tecniche di legatura sovra-inguinale retro-peritoneale).

La scarsa numerosità campionaria e la non omogeneità dei due sottogruppi in termini di età, grado di varicocele e parametri perfusori rende difficilmente confrontabili le due metodiche di scleroembolizzazione utilizzate nel nostro studio. Dai dati a nostra disposizione, le tecniche di scleroembolizzazione retrograda e di scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber sembrano sovrapponibili in termini di percentuale di recidiva di varicocele sinistro, rispettivamente del 16.7% e 17.1%, e di assenza di idrocele successivo alla procedura. Nei pazienti sottoposti a scleroembolizzazione retrograda non si osservava nessun miglioramento statisticamente significativo dei parametri seminali classici, ma era visibile un netto trend di miglioramento della concentrazione spermatica e degli spermatozoi mobili totali.

Si assisteva anche a un miglioramento significativo dei valori di frammentazione del DNA spermatico, dell'integrità cromatinica, delle aneuploidie spermatiche e dei parametri di perfusione testicolare sinistra e controlaterale. Nei pazienti sottoposti a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber si osservava un miglioramento statisticamente significativo di motilità progressiva, motilità totale, perfusione sinistra, e un trend di evidente miglioramento di concentrazione, conta spermatica totale e numero spermatozoi mobili totali.

Non sembrano quindi esserci differenze significative in termini di miglioramento della funzione testicolare tra le due metodiche endovascolari di correzione del varicocele. Un dato interessante emerso nel nostro studio è la maggiore comparsa di anticorpi anti-spermatozoo nel sottogruppo di pazienti sottoposto a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber. In questo sottogruppo infatti si passa da una percentuale di pazienti positivi al Mar-test del 7.3% prima dell'intervento a una percentuale del 22.0% dopo l'intervento, mentre nel sottogruppo di pazienti sottoposti a scleroembolizzazione retrograda si passava da una percentuale di positività del 9.4% prima dell'intervento a una del 4.2% dopo l'intervento. La tecnica di scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber sembra quindi associarsi a un maggior tasso

di sviluppo di anticorpi anti-spermatozoo, probabilmente secondario a una maggior vicinanza al testicolo del punto di incannulazione e iniezione del mezzo sclerosante. Non abbiamo trovato dati in letteratura che confermino questo risultato. In base alle conoscenze oggi disponibili, gli anticorpi anti-spermatozoi non sembrano avere un ruolo nella fisiopatologia del varicocele, mentre sono spesso riscontrati nelle situazioni di infiammazione e infezione genitale (83). E' noto come la presenza di un tasso elevato di anticorpi, soprattutto se localizzati sulla testa dello spermatozoo, possa compromettere la capacità del gamete di penetrare il muco cervicale e di fecondare la cellula uovo nel tratto riproduttivo femminile (84). Lo studio di Zouari et al (85) suggerisce che gli anticorpi anti-spermatozoo sarebbero in grado di alterare il processo di capacitazione e il normale svolgimento della reazione acrosomiale, oltre che di interferire nelle dinamiche di movimento del gamete maschile. Il maggior tasso di positività al Mar-test dopo l'intervento di scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber potrebbe associarsi quindi a un ridotto potenziale di fertilità. Ulteriori studi sono necessari per confermare questo risultato e per stabilire se questi si associno a un minore tasso di gravidanza spontanea dopo l'intervento.

4.1 Limiti dello studio

I limiti del nostro studio sono innanzitutto legati alla bassa numerosità del campione. Questo aspetto ha limitato il potere statistico delle analisi.

Un secondo limite è il carattere retrospettivo dello studio. Questo aspetto ha determinato una distribuzione non omogenea dei pazienti per tipo di intervento, e l'assenza di controllo sulle tempistiche di esecuzione degli esami di follow-up. La non omogeneità dei parametri precedenti all'intervento nel sottogruppo sottoposto a scleroembolizzazione retrograda e nel sottogruppo sottoposto a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber ha reso i due campioni difficilmente confrontabili, limitando il potere statistico delle analisi. Inoltre, non sono state valutate le anomalie cromosomiche e la frammentazione del DNA nel sottogruppo di pazienti sottoposti a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber.

Gli sviluppi futuri del presente studio prevedono una maggiore numerosità del campione, e il disegno di uno studio clinico randomizzato e controllato al fine di minimizzare i bias legati alla selezione dei pazienti e confrontare l'efficacia dei due diversi trattamenti endovascolari di varicocele.

5. CONCLUSIONI

L'intervento di scleroembolizzazione del varicocele, quando preceduto da un'opportuna selezione dei pazienti, si associa a un miglioramento significativo dello stato di perfusione del microcircolo testicolare bilaterale, dei parametri seminali e della qualità nucleare degli spermatozoi. Se questo miglioramento della funzione spermatogenetica si associa a un aumento del potenziale di fertilità e del tasso di gravidanza spontanea dovrà essere oggetto dei futuri sviluppi dello studio.

Abbiamo individuato come parametri predittivi di miglioramento della funzione testicolare i valori basali di concentrazione spermatica, conta spermatica totale, FSH e LH. In particolare abbiamo osservato un incremento dei parametri seminali significativamente più elevato nei pazienti con concentrazione <15 milioni/ml e conta totale <40 milioni. Sarebbe quindi opportuno, come indicato dalle linee guida, indirizzare all'intervento solo quei pazienti che presentano alterazioni dei parametri seminali. Inoltre, abbiamo osservato come valori basali di LH e FSH aumentati fino a 15 UI/l si associno a un maggior incremento del numero di spermatozoi totali e del numero di spermatozoi mobili totali dopo la sclerosi.

Non abbiamo osservato nessuna correlazione tra il grado di varicocele e i parametri seminali, ormonali ed ecografici prima dell'intervento. Inoltre il grado di varicocele non è stato in grado di predire il miglioramento della funzione testicolare dopo la sclerosi. Dai nostri dati emerge che la funzione testicolare si associa in modo molto significativo ai dati di perfusione parenchimale, con una importante correlazione tra i valori di perfusione e i parametri quantitativi e qualitativi del liquido seminale. Possiamo quindi concludere, in accordo con le linee guida vigenti al momento, che l'indicazione all'intervento di scleroembolizzazione non sia la presenza di un grado elevato di varicocele, quanto piuttosto l'evidenza di un rallentamento del microcircolo testicolare. Nell'ottica di individuare dei parametri predittivi basali di miglioramento della funzione testicolare dopo la correzione del varicocele, risulterebbe opportuno, alla luce dei dati ecografici di perfusione testicolare con mezzo di contrasto emersi dallo studio, consigliare l'intervento di scleroembolizzazione ai pazienti con un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro, in particolare in presenza di valori basali di MTT sinistro > 32s.

Confrontando i due tipi di intervento non sembrano emergere differenze sostanziali in termini di miglioramento dei parametri seminali. L'unica differenza evidente tra i due gruppi era l'incremento della percentuale di pazienti con positività agli anticorpi anti-spermatozoo dopo sclerosi anterograda. Tuttavia, la scarsa numerosità campionaria e la non omogeneità dei due sottogruppi in termini di età, grado di varicocele e parametri perfusori prima dell'intervento rende difficilmente confrontabili le due metodiche di scleroembolizzazione utilizzate nel nostro studio.

In conclusione dai nostri dati emerge che:

- i. Un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro si associa a una riduzione della funzione spermatogenetica con una riduzione complessiva dei parametri seminali e una riduzione della qualità nucleare dello spermatozoo;
- ii. A 6-12 mesi dall'intervento di scleroembolizzazione si osserva un miglioramento significativo dei parametri seminali e della qualità nucleare dello spermatozoo, quest'ultima valutata solo nei pazienti sottoposti a scleroembolizzazione retrograda. E' presente anche un miglioramento significativo dello stato di perfusione parenchimale bilaterale;
- iii. I pazienti oligozoospermici vanno incontro a un miglioramento della funzione spermatogenetica significativamente maggiore rispetto ai pazienti normozoospermici;
- iv. Valori basali di FSH e LH aumentati fino a 15 UI/l correlano positivamente con l'incremento percentuale del numero di spermatozoi totali e del numero di spermatozoi mobili totali dopo la sclerosi;
- v. Un rallentamento del microcircolo testicolare sinistro con valori di MTT sinistro $> 32s$ risulta essere un parametro predittivo del miglioramento della funzione spermatogenetica in seguito alla sclerosi, con un incremento significativamente maggiore dei parametri seminali rispetto ai pazienti con normale perfusione parenchimale;
- vi. Non sono evidenti differenze sostanziali tra le due tecniche di scleroembolizzazione, ad eccezione dell'aumento di positività agli anticorpi anti-spermatozoo nei pazienti sottoposti a scleroembolizzazione anterograda secondo Tauber.

BIBLIOGRAFIA

1. Alsaikhan B, Alrabeeah K, Delouya G, Zini A. *Epidemiology of varicocele*. Asian J Androl. 2016 Mar-Apr;18(2):179-81
2. Clarke BG. *Incidence of varicocele in normal men and among men of different ages*. JAMA. 1966 Dec 5;198(10):1121-2
3. Akbay E, Cayan S, Doruk E, Duce MN, Bozlu M. *The prevalence of varicocele and varicocele-related testicular atrophy in Turkish children and adolescents*. BJU Int. 2000 Sep;86(4):490-3
4. Levinger, U., Gornish, M., Gat, Y. and Bachar, G.N. 2007, *Is varicocele prevalence increasing with age?* Andrologia, 39: 77-80
5. Raman JD, Walmsley K, Goldstein M. *Inheritance of varicoceles*. Urology. 2005 Jun;65(6):1186-9
6. Mokhtari G, Pourreza F, Falahatkar S, Kamran AN, Jamali M. *Comparison of prevalence of varicocele in first-degree relatives of patients with varicocele and male kidney donors*. Urology. 2008 Apr;71(4):666-8
7. Mostafa T, Abdel-Hamid I, Taymour M, Ali O. *Genetic variants in varicocele-related male infertility: a systematic review and future directions*. Hum Fertil (Camb). 2021 Sep 30:1-17
8. Gray, Henry. 2013, *Gray's Anatomy*. London, England: Arcturus Publishing
9. Sofikitis N, Miyagawa I. *Experimental models for the study of varicocele: a selected review*. Jpn J Fertil Steril 1993; 38: 168-177
10. Sofikitis N, Dritsas K, Miyagawa I, Koutselinis A. *Anatomical characteristics of the left testicular venous system in man*. Arch Androl. 1993 Mar-Apr;30(2):79-85
11. Braedel HU, Steffens J, Ziegler M, Polsky MS, Platt ML. *A possible ontogenic etiology for idiopathic left varicocele*. J Urol. 1994 Jan;151(1):62-6
12. Kurklinsky AK, Rooke TW. *Nutcracker phenomenon and nutcracker syndrome*. Mayo Clin Proc. 2010 Jun;85(6):552-9
13. Armanini D, Boscaro M, Scaroni C, Petrelli M. *Guida pratica di endocrinologia*. Piccin. 2018: 285-9
14. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. *Spermatogenesis*. *Encyclopedia Britannica*, 16 May. 2023, <https://www.britannica.com/science/spermatogenesis>. Accessed 14 July 2023
15. Banks S, King SA, Irvine DS, Saunders PT. *Impact of a mild scrotal heat stress on DNA integrity in murine spermatozoa*. Reproduction. 2005 Apr;129(4):505-14
16. Mieusset R and Bujan L. *Testicular heating and its possible contributions to male infertility: a review*. Int J Androl 1995; 18: 169-184
17. Setchell BP. *Heat and the testis*. J Reprod Fertil 1995; 114:179-184

18. European Association of Urology (EAU), *Varicocele Guidelines*, 2000
19. Mieusset R, Bujan L, Mansat A, Pontonnier F, Grandjean H. *Hyperthermia and human spermatogenesis: enhancement of the inhibitory effect obtained by 'artificial cryptorchidism'*. Int J Androl. 1987 Aug;10(4):571-80
20. Jung A, Schuppe HC. *Influence of genital heat stress on semen quality in humans*. Andrologia. 2007 Dec;39(6):203-15
21. Garolla A, Torino M, Miola P, Caretta N, Pizzol D, Menegazzo M, Bertoldo A, Foresta C. *Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function*. Hum Reprod. 2015 May;30(5):1006-13
22. Kiliç F, Kayaselcuk F, Aygun C, Guvel S, Egilmez T, Ozkardes H. *Experimental varicocele induces hypoxia inducible factor-1alpha, vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in the rat testis*. J Urol. 2004 Sep;172(3):1188-91
23. Gat Y, Zukerman Z, Chakraborty J, Gornish M. *Varicocele, hypoxia and male infertility. Fluid Mechanics analysis of the impaired testicular venous drainage system*. Hum Reprod. 2005 Sep;20(9):2614-9
24. Salama N, Bergh A, Damber JE. *The changes in testicular vascular permeability during progression of the experimental varicocele*. Eur Urol. 2003 Jan;43(1):84-91
25. Sweeney TE, Rozum JS, Gore RW. *Alteration of testicular microvascular pressures during venous pressure elevation*. Am J Physiol. 1995 Jul;269(1 Pt 2):H37-45
26. Majzoub, A., Cho, CL., Agarwal, A., Esteves, S.C. (2019). *Oxidative Stress and Varicocele Pathophysiology*. In: Esteves, S., Cho, CL., Majzoub, A., Agarwal, A. (eds) *Varicocele and Male Infertility*. Springer
27. Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Agarwal A. *Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity*. J Urol. 1999 Jun;161(6):1831-4
28. Nallella KP, Allamaneni SS, Pasqualotto FF, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Agarwal A. *Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in patients with varicocele*. Urology. 2004 Nov;64(5):1010-3
29. Yeşilli C, Mungan G, Seçkiner I, Akduman B, Açikgöz S, Altan K, Mungan A. *Effect of varicocelectomy on sperm creatine kinase, HspA2 chaperone protein (creatine kinase-M type), LDH, LDH-X, and lipid peroxidation product levels in infertile men with varicocele*. Urology. 2005 Sep;66(3):610-5
30. Agarwal A, Sharma RK, Desai NR, Prabakaran S, Tavares A, Sabanegh E. *Role of oxidative stress in pathogenesis of varicocele and infertility*. Urology. 2009 Mar;73(3):461-9
31. Cohen MS, Plaine L, Brown JS. *The role of internal spermatic vein plasma catecholamine determinations in subfertile men with varicoceles*. Fertil Steril. 1975 Dec;26(12):1243-9
32. Ito H, Fuse H, Minagawa H, Kawamura K, Murakami M, Shimazaki J. *Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients*. Fertil Steril. 1982 Feb;37(2):218-22

33. Benoff SH, Millan C, Hurley IR, Napolitano B, Marmar JL. *Bilateral increased apoptosis and bilateral accumulation of cadmium in infertile men with left varicocele*. Hum Reprod. 2004 Mar;19(3):616-27
34. Benoff S, Goodwin LO, Millan C, Hurley IR, Pergolizzi RG, Marmar JL. *Deletions in L-type calcium channel alpha1 subunit testicular transcripts correlate with testicular cadmium and apoptosis in infertile men with varicoceles*. Fertil Steril. 2005 Mar;83(3):622-34
35. Agarwal A, Sharma R, Harlev A, Esteves SC. *Effect of varicocele on semen characteristics according to the new 2010 World Health Organization criteria: a systematic review and meta-analysis*. Asian J Androl. 2016 Mar-Apr;18(2):163-70
36. Zhang Y, Zhang W, Wu X, Liu G, Dai Y, Jiang H, Zhang X. *Effect of varicocele on sperm DNA damage: A systematic review and meta-analysis*. Andrologia. 2022 Feb;54(1)
37. Bellastella G, Carotenuto R, Caiazza F, Longo M, Cirillo P, Scappaticcio L, Carbone C, Arcaniolo D, Maiorino MI, Esposito K. *Varicocele: An Endocrinological Perspective*. Front Reprod Health. 2022
38. Rajfer J, Turner TT, Rivera F, Howards SS, Sikka SC. *Inhibition of testicular testosterone biosynthesis following experimental varicocele in rats*. Biol Reprod. 1987 May;36(4):933-7
39. Li F, Yue H, Yamaguchi K, Okada K, Matsushita K, Ando M, Chiba K, Fujisawa M. *Effect of surgical repair on testosterone production in infertile men with varicocele: a meta-analysis*. Int J Urol. 2012 Feb;19(2):149-54
40. Takeyama M, Honjoh M, Kodama M, Sakaguchi H, Koh E, Kondoh N, Fujioka H, Nakamura M, Namiki M, Okuyama A, et al. *Testicular steroids in spermatic and peripheral veins after single injection of hCG in patients with varicocele*. Arch Androl. 1990;24:207-13
41. Hampl R, Lachman M, Novák Z, Sulcová J, Stárka L. *Serum levels of steroid hormones in men with varicocele and oligospermia as compared to normozoospermic men*. Exp Clin Endocrinol. 1992;100(3):117-9
42. Hudson RW. *The endocrinology of varicoceles*. Fertil Steril. 1988 Feb;49(2):199-208
43. Foresta C, Bettella A, Rossato M, La Sala G, De Paoli M, Plebani M. *Inhibin B plasma concentrations in oligozoospermic subjects before and after therapy with follicle stimulating hormone*. Hum Reprod. 1999 Apr;14(4):906-12
44. Pierik FH, Abdesselam SA, Vreeburg JT, Dohle GR, De Jong FH, Weber RF. *Increased serum inhibin B levels after varicocele treatment*. Clin Endocrinol (Oxf). 2001 Jun;54:775-80
45. Tian D, Huang W, Yan H, Zong H, Zhang Y. *Effect of Varicocelectomy on Serum FSH and LH Levels for Patients with Varicocele: a Systematic Review and Meta-analysis*. Indian J Surg. 2018 Jun;80(3):233-238
46. Sarteschi LM. *Giornale Italiano di Ultrasonologia*; 1993 4(2):43-49
47. Caretta N, Palego P, Schipilliti M, Torino M, Pati M, Ferlin A, Foresta C. *Testicular contrast harmonic imaging to evaluate intratesticular perfusion alterations in patients with varicocele*. J Urol. 2010 Jan;183(1):263-9

48. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine; Society for Male Reproduction and Urology. *Report on varicocele and infertility: a committee opinion*, Fertil Steril 2014; 102: 1556-60
49. Giagulli VA, Carbone MD. *Varicocele correction for infertility: which patients to treat?* Int J Androl 2011;34:236–41
50. Baazeem A, Belzile E, Ciampi A, et al. *Varicocele and male factor infertility treatment: a new meta-analysis and review of the role of varicocele repair*. Eur Urol 2011;60:796–808
51. Grasso M, Lania C, Castelli M, Galli L, Franzoso F, Rigatti P. *Low-grade left varicocele in patients over 30 years old: the effect of spermatic vein ligation on fertility*. BJU Int 2000;85:305–7
52. Unal D, Yeni E, Verit A, Karatas OF. *Clomiphene citrate versus varicocelectomy in treatment of subclinical varicocele: a prospective randomized study*. Int J Urol 2001;8:227–30
53. Yamamoto M, Hibi H, Hirata Y, Miyake K, Ishigaki T. *Effect of varicocelectomy on sperm parameters and pregnancy rate in patients with subclinical varicocele: a randomized prospective controlled study*. J Urol 1996;155:1636–8
54. Breznik R, Vlaisavljevic V, Borko E. *Treatment of varicocele and male fertility*. Arch Androl 1993;30:157–60
55. Nilsson S, Edvinsson A, Nilsson B. *Improvement of semen and pregnancy rate after ligation and division of the internal spermatic vein: fact or fiction?* Br J Urol 1979;51:591–6
56. González R. *Proposal for describing procedures to correct varicocele. A new terminology*. Front Pediatr. 2014 May 30;2:47
57. Cayan S, Shavakhabov S, Kadioğlu A. *Treatment of palpable varicocele in infertile men: a meta-analysis to define the best technique*. J Androl. 2009 Jan-Feb;30(1):33-40
58. Szabo R, Kessler R. *Hydrocele following internal spermatic vein ligation: a retrospective study and review of the literature*. J Urol. 1984 Nov;132(5):924-5
59. Wang H, Ji ZG. *Microsurgery Versus Laparoscopic Surgery for Varicocele: A Meta-Analysis and Systematic Review of Randomized Controlled Trials*. J Invest Surg. 2020 Jan;33(1):40-48
60. Nilsson S, Edvinsson A, Nilsson B. *Improvement of semen and pregnancy rate after ligation and division of the internal spermatic vein: fact or fiction?* Br J Urol. 1979 Dec;51(6):591-6
61. Madgar I, Weissenberg R, Lunenfeld B, Karasik A, Goldwasser B. *Controlled trial of high spermatic vein ligation for varicocele in infertile men*. Fertil Steril. 1995 Jan;63(1):120-4
62. Morini D, Spaggiari G, Daolio J, Melli B, Nicoli A, De Feo G, Valli B, Viola D, Garganigo S, Magnani E, Pilia A, Polese A, Colla R, Simoni M, Aguzzoli L, Villani MT, Santi D. *Improvement of sperm morphology after surgical varicocele repair*. Andrology. 2021 Jul;9(4):1176-1184

63. Mongioi LM, Mammino L, Compagnone M, Condorelli RA, Basile A, Alamo A, La Vignera S, Morgia G, Russo GI, Calogero AE. *Effects of Varicocele Treatment on Sperm Conventional Parameters: Surgical Varicocelectomy Versus Sclerotherapy*. Cardiovasc Intervent Radiol. 2019 Mar;42(3):396-404
64. Alizadeh M, Nasebakht A, Valizadeh R, Mohammadi Fallah M, Taghizadeh Afshari A, Rahimi MM, Daneshyar C. *A preliminary evaluation of serum level of testosterone, LH, and FSH in patients with varicocele after varicocelectomy as a kidney-related disease*. Ther Clin Risk Manag. 2018 Sep 4;14:1585-1590
65. Chen YW, Niu YH, Wang DQ, Li H, Pokhrel G, Xu H, Wang T, Wang SG, Liu JH. *Effect of adjuvant drug therapy after varicocelectomy on fertility outcome in males with varicocele-associated infertility: Systematic review and meta-analysis*. Andrologia. 2018 Oct;50(8)
66. Pyrgidis N, Sokolakis I, Palapelas V, Tishukov M, Mykoniatis I, Symeonidis EN, Zachariou A, Kaltsas A, Sofikitis N, Hatzichristodoulou G, Tsiampali C, Dimitriadis F. *The Effect of Antioxidant Supplementation on Operated or Non-Operated Varicocele-Associated Infertility: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Antioxidants (Basel). 2021 Jul 1;10(7):1067
67. *WHO laboratory manual for examination and processing of human semen*, VI edition, 2021
68. Di Bisceglie C, Fornengo R, Grosso M, Gazzera C, Mancini A, Andriani B, Lanfranco F, Brocato L, Gandini G, Manieri C. *Follow-up of varicocele treated with percutaneous retrograde sclerotherapy: technical, clinical and seminal aspects*. J Endocrinol Invest. 2003 Nov;26(11):1059-64
69. Keene DJB, Cervellione RM. *Antegrade sclerotherapy in adolescent varicocele patients*. J Pediatr Urol. 2017 Jun;13(3):305.e1-305
70. Lotti F, Frizza F, Balercia G, Barbonetti A, Behre HM, Calogero AE, Cremers JF, Francavilla F, Isidori AM, Kliesch S, La Vignera S, Lenzi A, Marcou M, Pilatz A, Poolamets O, Punab M, Peraza Godoy MF, Rajmil O, Salvio G, Shaeer O, Weidner W, Maseroli E, Cipriani S, Baldi E, Degl'Innocenti S, Danza G, Caldini AL, Terreni A, Boni L, Krausz C, Maggi M. *The European Academy of Andrology (EAA) ultrasound study on healthy, fertile men: Scrotal ultrasound reference ranges and associations with clinical, seminal, and biochemical characteristics*. Andrology. 2021 Mar;9(2):559-576
71. Çayan S, Shavakhabov S, Kadio˘ Glu A. *Treatment of Palpable Varicocele in Infertile Men: A Meta-Analysis to Define the Best Technique*. J. Androl. 2009, 30, 33–40
72. Shah R, Agarwal A, Kavoussi P, Rambhatla A, Saleh R, Cannarella R, Harraz A.M, Boitrelle F, Kuroda S, Hamoda T.A.A.A.M, et al. *Consensus and Diversity in the Management of Varicocele for Male Infertility: Results of a Global Practice Survey and Comparison with Guidelines and Recommendations*. World J. Men's Health 2023, 41, 164
73. Takihara H, Sakatoku J, Cockett A.T.K. *The Pathophysiology of Varicocele in Male Infertility*. Fertil. Steril. 1991, 55, 861–868

74. Crestani A, Giannarini G, Calandriello M, Rossanese M, Mancini M, Novara G, Ficarra V. *Antegrade Scrotal Sclerotherapy of Internal Spermatic Veins for Varicocele Treatment: Technique, Complications, and Results*. Asian J. Androl. 2016, 18, 292–295
75. Grasso M, Lania C, Castelli M, Galli L, Franzoso F, Rigatti P. *Low-Grade Left Varicocele in Patients over 30 Years Old : The Effect of Spermatic Vein Ligation on Fertility*. BJU Int. 2000, 85, 305–307
76. Franco A, Proietti F, Palombi V, Savarese G, Guidotti M, Leonardo C, Ferro F, Manna C, Franco G. *Varicocele: To Treat or Not to Treat?* J Clin Med. 2023 Jun 15;12(12):4062
77. Pallotti F, Paoli D, Carlini T, Vestri AR, Martino G, Lenzi A, Lombardo F. *Varicocele and semen quality: a retrospective case-control study of 4230 patients from a single centre*. J Endocrinol Invest. 2018 Feb;41(2):185-192
78. Damsgaard J, Joensen UN, Carlsen E, Erenpreiss J, Blomberg Jensen M, Matulevicius V, Zilaitiene B, Olesen IA, Perheentupa A, Punab M, Salzbrunn A, Toppari J, Virtanen HE, Juul A, Skakkebaek NE, Jørgensen N. *Varicocele Is Associated with Impaired Semen Quality and Reproductive Hormone Levels: A Study of 7035 Healthy Young Men from Six European Countries*. Eur Urol. 2016 Dec;70(6):1019-1029
79. Franco, G.; Misuraca, L.; Ciletti, M.; Leonardo, C.; De Nunzio, C.; Palminteri, E.; De Dominicis, C. *Surgery of Male Infertility: An Update*. Urologia 2014, 81, 154–164
80. Johnson SL, Dunleavy J, Gemmell NJ, Nakagawa S. *Consistent age-dependent declines in human semen quality: a systematic review and meta-analysis*. Ageing Res Rev. 2015 Jan;19:22-33
81. Ok F, Erdogan O, Durmus E. *Can preoperative gonadotropin and testosterone levels predict the success of varicocelectomy?* Andrologia. 2020 Dec;52(11)
82. Madhusoodanan V, Blachman-Braun R, Patel P, Ji L, Masterson TA, Owyong M, Greer A, Ramasamy R. *Preoperative follicle-stimulating hormone: A factor associated with semen parameter improvement after microscopic subinguinal varicocelectomy*. Can Urol Assoc J. 2020 Jan;14(1)
83. Ozen H, Asar G, Güngör S, Peker AF. *Varicocele and antisperm antibodies*. Int Urol Nephrol. 1985;17(1):97-101
84. Alexander NJ. *Antibodies to human spermatozoa impede sperm penetration of cervical mucus or hamster eggs*. Fertil Steril. 1984 Mar;41(3):433-9
85. Zouari R, De Almeida M, Feneux D. *Effect of sperm-associated antibodies on the dynamics of sperm movement and on the acrosome reaction of human spermatozoa*. J Reprod Immunol. 1992 Jun;22(1):59-72

RINGRAZIAMENTI

Questo traguardo sarebbe stato impossibile da raggiungere senza il sostegno di tante persone che mi sono state vicine e che mi hanno supportato e sopportato in questi sei lunghi anni (e anche molto prima).

Grazie ai miei genitori Maria Gemma e Giulio per esserci sempre stati. Mamma, mi ci è voluto un po' di tempo, ma alla fine ho capito. Grazie a mia sorella Giada, per aver portato pazienza ogni volta che io e la mamma ti abbiamo detto "ma non ha studiato?". Sarai un medico straordinario, il migliore della famiglia.

A mia nonna Luisa, per le chiacchiere notturne quando ero bambina, e per essere sempre stata un porto sicuro. Senza di te la mia vita finora sarebbe stata molto meno luminosa. A mia nonna Bruna, che da tanti anni non c'è più, e che se ne era andata ancora prima. In realtà ci sei sempre stata, mi hai insegnato ad amare le parole e a guardare il mondo con curiosità. Nei miei ricordi stai ancora ballando il valzer da sola nel salotto di casa, ed è una musica bellissima. Se sono arrivata dove sono oggi è anche merito tuo.

Al professor Andrea Garolla, per essere stato il mentore che qualsiasi studente avrebbe bisogno di incontrare lungo il proprio percorso. Grazie per avermi fatto capire cosa voglio fare da grande e che tipo di medico voglio diventare.

A tutti i miei compagni di viaggio all'università, in particolare Riccardo, Elena, Alessandro e Giovanni: abbiamo condiviso gioie, preoccupazioni, successi e delusioni. Senza di voi non avrei mantenuto la mia già poca sanità mentale. A Noemi: ci siamo conosciute solo alla fine, ma abbiamo recuperato ogni minuto perso. Ad Aleksandra, per gli spritz e le serate al bingo.

Il ringraziamento più importante però va a mio marito Alessandro e a mia figlia Arianna. Avete perso il conto delle volte che la mamma si è dovuta chiudere in cameretta per studiare, delle volte che non abbiamo potuto stare insieme quanto avreste voluto perché c'era un esame alle porte. Arianna, spero di averti fatto capire lo stesso quanto ti voglio bene e che tu possa essere orgogliosa di me.