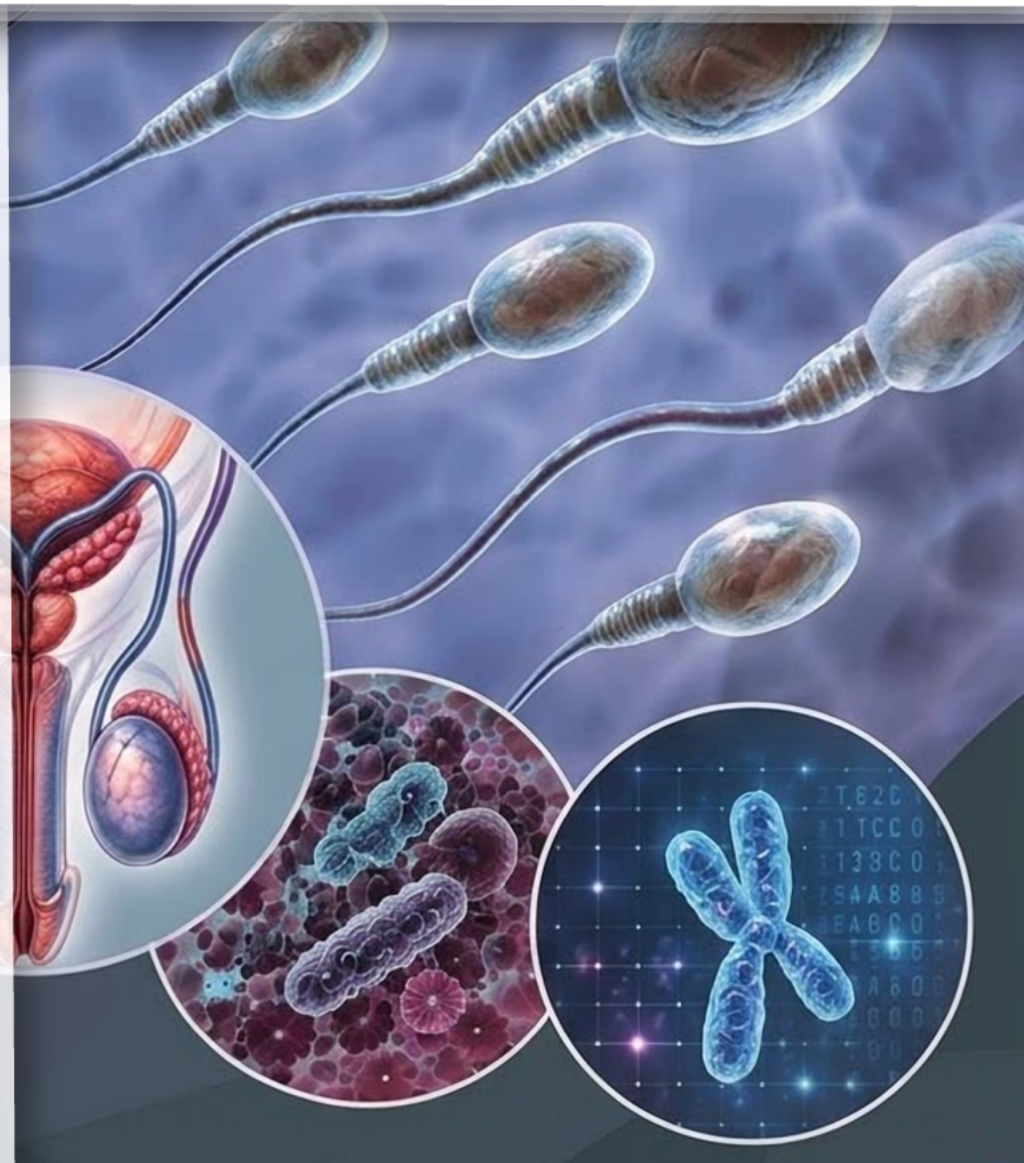
Seminologia
e apparato riproduttore

EdiSES
EDIZIONI

F. Giacone • L. Bosco • G. Ruvolo

Seminologia
e apparato riproduttore

P. Asero
M.G. Asmundo
S. Bianca
M.M. Bona
L. Bosco
A.E. Calogero
R. Cannarella
S. Chamayou
R. Condorelli
A. Costa
A. Crafa
R. Curto
V. D'Agata
A.G. D'Amico
F. D'Arrigo
C. Di Napoli
T. Fasciana
A. Ferro
M. Fichera
F. Giacone
A. Giammanco
A. Grillo
A. Guglielmino
S. La Vignera
C. Liuzzo
T. Notari
M. Paradiso
M. Pillitteri
G.I. Russo
G. Ruvolo
S. Saccone
M. Sicali
V. Talarico



EdiSES EDIZIONI

Seminologia e apparato riproduttore
Copyright © 2026 EdiSES Edizioni S.r.l. – Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0
2030 2029 2028 2027 2026

Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata

A norma di legge è vietata la riproduzione, anche parziale, del presente volume o parte di esso con qualsiasi mezzo.

L'Editore

L'Editore ha effettuato quanto in suo potere per richiedere il permesso di riproduzione del materiale di cui non è titolare del copyright e resta comunque a disposizione di tutti gli aventi diritto.

Alcune immagini contenute in questo testo, tra cui quella di copertina, sono state generate o elaborate con il supporto di strumenti di intelligenza artificiale e successivamente revisionate e curate dall'autore e ottimizzate per la stampa

Fotocomposizione
Fotocomposizione EdiSES Edizioni S.r.l.

Stampato presso
Print Sprint S.r.l. – Napoli

per conto della
EdiSES Edizioni S.r.l. – Piazza Dante, 89 – Napoli

www.edises.it
assistenza.edises.it

ISBN 978 88 3623 265 9

I curatori, l'editore e tutti coloro in qualche modo coinvolti nella preparazione o pubblicazione di quest'opera hanno posto il massimo impegno per garantire che le informazioni ivi contenute siano corrette, compatibilmente con le conoscenze disponibili al momento della stampa; essi, tuttavia, non possono essere ritenuti responsabili dei risultati dell'utilizzo di tali informazioni e restano a disposizione per integrare la citazione delle fonti, qualora incompleta o imprecisa.

Autori

Paola Asero	Centro Elämää seminologia, Tremestieri Etneo
Maria Giovanna Asmundo	Dipartimento di Urologia, Ospedale Gravina e San Pietro, Caltagirone
Sebastiano Bianca	ARNAS Garibaldi, Catania
Mariarita Margherita Bona	Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro", Università degli studi di Palermo
Liana Bosco	Università Roma Tre (Docente a contratto), Roma
Aldo Eugenio Calogero	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Rossella Cannarella	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Sandrine Chamayou	Centro HERA - Unità di Medicina della Riproduzione, Sant'Agata Li Battiati
Rosita Condorelli	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Antonio Costa	Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università degli studi di Catania
Andrea Crafa	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Roberto Curto	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Velia D'Agata	Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute, Università degli studi di Catania
Agata Grazia D'Amico	Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute, Università degli studi di Catania
Francesco D'Arrigo	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Claudia Di Napoli	Università degli studi KORE, Ospedale Umberto I, Enna
Teresa Fasciana	Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro", Università degli studi di Palermo

Arianna Ferro	Centro PMA, Azienda Ospedaliera Papardo, Messina
Marco Fichera	Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università degli studi di Catania
Filippo Giacone	Centro HERA - Unità di Medicina della Riproduzione, Sant'Agata Li Battiati
Anna Giammanco	Centro di Riferimento per il Controllo della Legionellosi, Università degli studi di Palermo
Agata Grillo	LABOGEN s.a.s., Catania
Antonino Guglielmino	Centro HERA - Unità di Medicina della Riproduzione, Sant'Agata Li Battiati
Sandro La Vignera	Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli studi di Catania
Carmelo Liuzzo	Centro PMA, Azienda Ospedaliera Papardo, Messina
Tiziana Notari	Laboratorio PMA Centro Donna - Medicina della Riproduzione, Laboratorio di Seminologia Centro Polidiagnostico e di Ricerca Check Up-Day Surgery, Salerno
Marianna Paradiso	Dipartimento Materno Infantile, U.O. Ginecologia e Ostetricia, Servizio di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), Azienda Ospedaliera per l'Emergenza Cannizzaro, Catania
Matteo Pillitteri	Comitato Scientifico Nazionale Biologi Nutrizionisti, Sciacca
Giorgio Ivan Russo	Dipartimento di Chirurgia Generale e Specialità Medico-Chirurgiche, Università degli studi di Catania
Giovanni Ruvolo	Centro di Biologia della Riproduzione, Palermo
Salvatore Saccone	Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Catania
Maria Sicali	Centro HERA - Unità di Medicina della Riproduzione, Sant'Agata Li Battiati
Virginia Talarico	Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro", Università degli studi di Palermo

Coordinamento e cura di Filippo Giacone, Liana Bosco e Giovanni Ruvolo

La pubblicazione del presente volume è stata resa possibile grazie al sostegno dell'Ordine dei Biologi della Sicilia, che si ringrazia per il contributo alla diffusione della cultura seminologica

Prefazione

Negli ultimi decenni, la medicina della riproduzione ha conosciuto una straordinaria evoluzione scientifica e tecnologica. In questo contesto, lo studio del liquido seminale e delle sue caratteristiche biologiche ha assunto un ruolo sempre più centrale, non solo nella diagnosi dell'infertilità maschile, ma anche nella comprensione dei complessi meccanismi fisiologici e patologici che regolano la funzione riproduttiva.

La seminologia, disciplina dedicata allo studio del liquido seminale e degli spermatozoi, rappresenta oggi molto più di una semplice metodica diagnostica. Essa costituisce una vera e propria chiave di accesso allo studio integrato della fisiologia, della patologia, della genetica e della microbiologia dell'apparato riproduttore maschile. Attraverso l'analisi del liquido seminale è, infatti, possibile cogliere segnali biologici che riflettono alterazioni endocrine, disfunzioni testicolari, condizioni genetiche, processi infiammatori o infettivi e, più in generale, l'impatto di fattori ambientali e stili di vita sulla salute riproduttiva.

Questo volume nasce con l'obiettivo di offrire una visione organica e multidisciplinare della seminologia, collocandola nel più ampio contesto della biologia e della medicina della riproduzione. L'idea del libro trae origine dalla Summer School sulla Seminologia, tenutasi presso il Centro HERA - UMR di Sant'Agata Li Battiati, Catania, nel mese di luglio 2025, occasione di confronto scientifico e formativo che ha riunito specialisti provenienti da diversi ambiti della medicina della riproduzione. Da quell'esperienza è emersa l'esigenza di raccogliere in un unico testo le conoscenze teoriche e pratiche discusse durante il corso, ampliandole e aggiornandole alla luce delle più recenti evidenze scientifiche.

Il testo si articola in diverse sezioni che guidano il lettore lungo un percorso progressivo: dalle basi anatomiche e fisiologiche dell'apparato riproduttore maschile ai meccanismi endocrini che regolano la spermatogenesi, fino alla composizione e al significato biologico del liquido seminale.

Particolare attenzione è dedicata alle metodiche di analisi e agli standard internazionali per la valutazione del liquido seminale, con riferimento alle più recenti indicazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, nonché agli aspetti organizzativi e qualitativi del laboratorio di andrologia. In questa prospettiva, la figura del seminologo emerge come un professionista altamente specializzato, il cui ruolo si colloca in stretta sinergia con quello dell'embriologo e degli altri specialisti coinvolti nella medicina della riproduzione.

Una sezione del volume approfondisce le principali condizioni patologiche che possono influenzare la qualità del liquido seminale, analizzando i riflessi delle patologie pre-testicolari, testicolari e post-testicolari, nonché gli effetti dell'invecchiamento, degli stili di vita e dei fattori ambientali sulla funzione riproduttiva maschile.

Il libro dedica inoltre ampio spazio agli aspetti genetici dell'infertilità maschile, ambito che negli ultimi anni ha conosciuto un rapido sviluppo grazie all'introduzione di nuove metodiche di analisi molecolare. La comprensione dei fattori genetici responsabili delle alterazioni della spermatogenesi e della qualità del liquido seminale rappresenta oggi uno

strumento fondamentale sia per la diagnosi sia per l'inquadramento delle coppie che accedono ai programmi di riproduzione medicalmente assistita.

Una parte di grande rilevanza è rappresentata dal ruolo dei microrganismi nel determinare alterazioni della fertilità maschile. L'analisi delle infezioni batteriche, protozoarie e virali, così come lo studio emergente del microbiota seminale, offre nuove prospettive nella comprensione delle interazioni tra ambiente microbico e funzione riproduttiva.

Infine, il volume affronta le principali strategie terapeutiche, sia ormonali sia non ormonali, e dedica attenzione al ruolo della nutrizione e degli stili alimentari nella tutela della salute riproduttiva maschile.

Grazie al contributo di numerosi specialisti provenienti da ambiti disciplinari diversi - dall'andrologia alla genetica, dalla microbiologia alla biologia della riproduzione - questo libro si propone come uno strumento di aggiornamento e di approfondimento per medici, biologi, seminologi, embriologi e per tutti i professionisti coinvolti nello studio e nella gestione dell'infertilità maschile.

La speranza è che questo lavoro possa contribuire non solo a consolidare le conoscenze attuali, ma anche a stimolare nuove prospettive di ricerca e collaborazione interdisciplinare in un settore della medicina sempre più rilevante per la salute individuale e per la società.

Salvatore Saccone
Professore Ordinario di Genetica, Università degli studi di Catania

Indice generale

Anatomia e fisiologia dell'apparato riproduttore maschile, liquido seminale e seminologia

1. Anatomia e fisiologia dell'apparato riproduttore maschile

- Abstract 4
- 1. Introduzione 4
- 2. Organizzazione generale 5
  - 2.1 Testicoli: anatomia microscopica, macroscopica e spermatogenesi 6
    - 2.1.1 Anatomia microscopica del tubulo seminifero 6
    - 2.1.2 La spermatogenesi 9
  - 2.2 Regolazione ormonale: l'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo 10
  - 2.3 Vie spermatiche 10
  - 2.4 Le ghiandole annesse all'apparato genitale maschile 11
  - 2.5 Genitali esterni (generalità) 13
    - 2.5.1 Il pene 13
    - 2.5.2 Lo scroto 13
- Bibliografia 15

2. Controllo endocrino della spermatogenesi

- Abstract 18
- 1. Introduzione 18
- 2. La spermatogenesi è un processo ormone-dipendente 19
  - 2.1 Ormone follicolo-stimolante 19
  - 2.2 Insulin-like growth factor 1 and 2 21
  - 2.3 Testosterone 22
  - 2.4 Ormone anti-Mülleriano 23
- 3. Conclusioni 24
- Bibliografia 24

3. Liquido seminale: composizione e caratteristiche

- Abstract 28
- 1. Introduzione 28
- 2. Spermatozoi 29
- 3. Agglutinazioni 30
- 4. Aggregazioni 31
- 5. Componente cellulare non nemaspermica 31
  - 5.1 Cellule rotonde 32
    - 5.1.1 Cellule germinali immature 32
    - 5.1.2 Leucociti 32
  - 5.2 Cellule epiteliali di sfaldamento 32
  - 5.3 Eritrociti 33
  - 5.4 Batteri 33
  - 5.5 Cristalli 34
- 6. Componenti biochimici principali 34
  - 6.1 Carboidrati 34
  - 6.2 Proteine ed enzimi 34
  - 6.3 Lipidi 35
  - 6.4 Componenti inorganici 35
  - 6.5 Metaboliti e antiossidanti 35
  - 6.6 Ormoni e mediatori immunitari 36
- 7. Caratteristiche fisico-chimiche 36
- 8. Variabilità fisiologica 36
- 9. Significato clinico dell'analisi del liquido seminale 37

- 10. Conclusioni 38

Bibliografia 39

4. L'esame del liquido seminale secondo la VI edizione del manuale della Organizzazione Mondiale della Sanità

- Abstract 42
- 1. Introduzione 42
- 2. Esame Di Base: procedure, parametri, raccomandazioni 44
  - 2.1 Raccolta del campione 45
  - 2.2 Valutazione macroscopica 46
  - 2.3 Valutazione microscopica 46
- 3. Esami estesi 48
  - 3.1 Leucociti 48
  - 3.2 Quantificazione delle cellule germinali immature 49
  - 3.3 Anticorpi antispermatici 49
  - 3.4 Frammentazione del DNA nemaspermico 50
- 4. Esami avanzati 50
- 5. Conclusioni 50

Bibliografia 51

5. Come lo spermatozoo influenza lo sviluppo embrionale

- Abstract 54
- 1. Introduzione 54
- 2. Spermatogenesi e maturazione degli spermatozoi 55
- 3. Struttura e funzione della cromatina spermatica 56
- 4. L'indice di frammentazione del DNA spermatico (DFI): un biomarcatore di integrità genica 56
  - 4.1 Metodi di valutazione del DFI 57
  - 4.2 Correlazione tra DFI elevato e outcome clinici nella PMA 57
- 5. Le proteine spermatiche e il loro ruolo nella fecondazione e nello sviluppo 57
- 6. Riconoscimento e fusione tra spermatozoo e ovocita 58
- 7. PLCζ1 e le oscillazioni del calcio intracellulare: il segnale dell'attivazione ovocitaria 58
- 8. Dalla fecondazione allo sviluppo embrionale precoce 59
- 9. Implicazioni cliniche e applicazioni diagnostiche 59
- 10. Il contributo epigenetico paterno 59
  - 10.1 Metilazione del DNA e imprinting paterno 59
  - 10.2 Modificazioni post-traduzionali degli istoni e protaminazione 60
  - 10.3 Riprogrammazione epigenetica dopo la fecondazione 60
- 11 Il trascrittoma spermatico e i microRNA 61
  - 11.1 Origine e composizione del trascrittoma spermatico 61
  - 11.2 Il ruolo dei microRNA (miRNA) 61
  - 11.3 piRNA, tRNA derivati e long non-coding RNA 62
- 12. Relazione tra qualità seminale e outcome embrionali 62
- 13. Età paterna e modificazioni epigenetiche 63
- 14 Valutazione avanzata del liquido seminale e predizione degli outcome clinici 63
- 15. Implicazioni cliniche e prospettive future 63
- 16. Verso una valutazione integrata del fattore maschile 63
- 17. Selezione avanzata degli spermatozoi 64
- 18. Intelligenza artificiale e predizione personalizzata 64

19. Conclusioni 64
Bibliografia 64

6. Controlli di qualità nel laboratorio di andrologia

Abstract 70
1. Introduzione 70
2. Premessa 71
3. Sistema di Gestione della Qualità (SGQ) 72
3.1 Documentazione 73
3.1.1 Documenti esterni 73
3.1.2 Documenti interni 73
3.1.3 Requisiti di gestione documentale (operativi) 73
3.2 Il Personale 74
3.3 Attrezzature ed impianti 74
3.3.1 Documentazione delle apparecchiature 74
3.3.2 Convalida e taratura 74
3.3.3 Valutazione tecnici esterni e fornitori 75
3.3.4 Impianti ed ambienti 75
3.4 Materiali di consumo 75
3.5 Monitoraggio e indicatori di qualità 75
3.6 Soddisfazione dell'utenza e resoconto del personale 76
3.6.1 Raccolta della voce dell'utente 76
3.6.2 Coinvolgimento proattivo del personale 76
3.7 Gestione del rischio clinico 76
3.7.1 Principi generali 76
3.7.2 Metodi di analisi del rischio 77
3.7.3 Il metodo FMEA 77
3.7.4 Esempi applicativi 77
3.8 Innovazioni e sviluppo in PMA 78
4. Conclusioni 78
Bibliografia 79

7. L'attività del Seminologo: differenze ed affinità con l'Embriologo

Abstract 82
1. L'attività del seminologo 82
2. La formazione del seminologo e campi di applicazione 82
3. Diagnostica 83
4. Crioconservazione dei gameti maschili: banca del seme 83
4.1 Campioni crioconservati 84
4.2 Applicazioni cliniche della crioconservazione 84
5. Il ruolo del seminologo nella PMA 85
6. Tecniche di separazione nema-spermica 85
7. Ricerca scientifica 86
8. L'attività dell'embriologo: Aspetti normativi e ruolo delle Società Scientifiche 86
9. Formazione e competenze 87
10. Procedure e gestione del laboratorio 88
10.1 Manipolazione dei gameti 88
10.1.1 Pick-up e selezione ovocitaria 88
10.1.2 Analisi e preparazione del liquido seminale 90
10.2 Fecondazione e sviluppo embrionale 90
10.2.1 FIVET e ICSI 90
10.2.2 Sviluppo embrionale 91
11. Crioconservazione 91
12. Diagnosi pre-impianto 91
13. Gestione del laboratorio 92
14. Affinità tra seminologia e embriologia 92
15. Differenze tra seminologo e embriologo 92
16. Conclusioni 93
Bibliografia 93

Ripercussioni delle patologie dell'apparato riproduttore maschile sul liquido seminale

8. Patologie pre-testicolari: riflessi sul liquido seminale

- Abstract 100
- 1. Introduzione 100
- 2. Cause di infertilità maschile 101
- 3. Consumo di alcolici 101
- 4. Farmaci 102
- 5. Cause genetiche: Ipogonadismo ipogonadotropo 102
- 6. Cause genetiche: Sindrome di Kallmann 103
- 7. Ipopituitarismo 103
- 8. Sindrome della sella vuota 104
- 9. Tumori ipofisari 105
  - 9.1 Prolattinoma 105
- 10. Disfunzioni tiroidee 107
- 11. Obesità e sindrome metabolica 107
- 12. Diabete mellito 107
- 13. Impatto complessivo sul liquido seminale 107
- 14. Conclusioni 108

Bibliografia 109

9. Patologie testicolari: riflessi sul liquido seminale

- Abstract 112
- 1. Introduzione 112
- 2. Criptorchidismo e fertilità futura 113
- 3. Tumore testicolare, microlitiasi e funzione riproduttiva 114
- 4. Varicocele: il paradigma della patologia scrotale associata a infertilità 115
- 5. Epididimo, infezioni e infertilità 115
- 6. Approccio clinico integrato al paziente con patologia scrotale e infertilità 116
- 7. Conclusioni 116

Bibliografia 117

10. Patologie post-testicolari: riflessi sul liquido seminale

- Abstract 120
- 1. Introduzione 120
- 2. Forme post-testicolari 121
- 3. Disfunzione delle ghiandole sessuali accessorie 122
- 4. Infezioni, infiammazione e meccanismi immunologici (MAGI) 123
- 5. Diagnosi 125
- 6. Terapia 127
  - 6.1 Vasovasostomia e vasoepididimostomia 128
  - 6.2 Ostruzione dei dotti eiaculatori (EDO) 128
  - 6.3 Recupero spermatico 128
  - 6.4 Terapia antibiotica ed anti-infiammatoria 128
  - 6.5 Varicocele 129
  - 6.6 Disfunzione secretoria delle ghiandole accessorie 129
  - 6.7 Eiaculazione retrograda 129
  - 6.8 Procreazione medicalmente assistita (PMA) 130
- 7. Conclusioni 130

Bibliografia 131

11. Effetti dell'invecchiamento sull'apparato riproduttore maschile e sul liquido seminale

- Abstract 138

- 1. Introduzione 138
- 2. Il declino del numero degli spermatozoi 139
- 3. Diventare padri tardi: Rischi e implicazioni per la fertilità e per la salute dei figli 140
  - 3.1 Parametri spermatici convenzionali e biofunzionali 140
  - 3.2 Gravidanza 141
  - 3.3 Salute della prole 142
- 4. Conclusioni 142

Bibliografia 143

12. Stili di vita, ambiente ed effetti sull'apparato riproduttore maschile e sul liquido seminale

- Abstract 146
- 1. Introduzione 146
- 2. Ambiente e fertilità maschile 147
  - 2.1 Inquinamento atmosferico 147
  - 2.2 Sostanze chimiche e interferenti endocrini 147
  - 2.3 Microplastiche e nanoplastiche 148
  - 2.4 Radiazioni, calore e altri fattori fisici 149
- 3. Stili di vita 149
  - 3.1 Obesità, sindrome metabolica e dieta 149
  - 3.2 Fumo, alcol e sostanze d'abuso 150
  - 3.3 Attività fisica e sedentarietà 150
  - 3.4 Età, sonno e stress psicosociale 150
- 4. Meccanismi biologici d'azione 151
  - 4.1 Stress ossidativo e specie reattive dell'ossigeno (ROS) 151
  - 4.2 Disregolazione endocrina 152
  - 4.3 Infiammazione e danno cellulare 152
  - 4.4 Alterazioni epigenetiche 152
- 5. Implicazioni cliniche e di salute pubblica 153
  - 5.1 Il liquido seminale come biomarcatore 153
  - 5.2 Interventi preventivi e terapeutici 153
- 6. Conclusioni 155

Bibliografia 156

Aspetti genetici che incidono sull'apparato riproduttore e sul liquido seminale

13. Genetica dell'infertilità maschile: basi, diagnosi e implicazioni cliniche

- Abstract 166
- 1. Introduzione 166
- 2. Inquadramento genetico dell'infertilità maschile 166
- 3. Frequenza e impatto clinico 167
- 4. Alterazioni cromosomiche e infertilità 167
- 5. Anomalie dei cromosomi sessuali 168
  - 5.1 Sindrome di Klinefelter (47, XXY) 168
  - 5.2 Sindrome di Jacobs (47, XYY) 169
- 6. Alterazioni strutturali dei cromosomi 169
- 7. Microdelezioni del cromosoma Y 170
- 8. Mutazioni del gene CFTR e infertilità maschile 170
- 9. Sindromi genetiche rare associate ad infertilità maschile 170
  - 9.1 Sindrome da insensibilità agli androgeni (AIS) 170
  - 9.2 Sindrome di Kallmann 171

- 10. Altre condizioni monogeniche 171
- 11. Approccio diagnostico e ruolo della consulenza genetica: 172
  - 11.1 Indicazioni ai test genetici 172
  - 11.2 Percorso di consulenza genetica 172
- 12. Implicazioni cliniche e terapeutiche 172
- 13. Conclusioni 173

Bibliografia 173

14. Impatto delle alterazioni genetiche sui parametri del liquido seminale

- Abstract 176
- 1. Introduzione 176
- 2. Indagini genetiche per rilevare anomalie cromosomiche e mutazioni genetiche 177
  - 2.1 Case report: riarrangiamento cromosomico complesso (CCR) 178
  - 2.2 L'importanza del cariotipo come esame di screening 179
- 3. Infertilità maschile legata a mutazioni nel gene CFTR 179
  - 3.1 Dal gene alla proteina CFTR 180
  - 3.2 Indagini mutazionali nel gene CFTR in caso di infertilità e PMA 181
  - 3.3 Agenesia congenita bilaterale dei dotti deferenti (CBAVD) 181
  - 3.4 L'importanza dello screening per il gene CFTR 181
- 4. Microdelezione del cromosoma Y 181
- 5. Mutazioni monogeniche nel gene AR 182
- 6. Frammentazione del DNA spermatico 183
  - 6.1 Frammentazione del DNA spermatico e successo riproduttivo 183
- 7. Sintesi degli argomenti 184
- 8. *Preimplantation Genetic Testing* (PGT) 184
  - 8.1 Sequenziamento del DNA embrionale mediante Sequenziamento di nuova generazione (NGS) 185
- 9. Conclusioni 186

Bibliografia 186

15. Principali metodiche di laboratorio per valutare i fattori genetici responsabili dell'alterazione del liquido seminale

- Abstract 188
- 1. Introduzione 188
- 2. Principali vie biologiche della spermatogenesi coinvolte nell'infertilità genetica maschile 190
  - 2.1 Regolazione endocrina e sviluppo gonadico 190
  - 2.2 Proliferazione spermatogoniale e meiosi 191
  - 2.3 Spermiogenesi: formazione della testa e dell'acrosoma 191
  - 2.4 Struttura del flagello e motilità spermatica 191
  - 2.5 Motilità "pura" e vie di segnalazione calcio-dipendenti 191
  - 2.6 Integrità del DNA spermatico e attivazione ovocitaria 192
- 3. Quando sospettare una base genetica 192
- 4. Spettro delle varianti genetiche e genomiche 193
- 5. Metodi di citogenetica e citogenomica 196
  - 5.1 Cariotipo da sangue periferico 196
  - 5.2 FISH (ibridazione in situ fluorescente) 196
  - 5.3 Array-CGH e SNP-array 197
  - 5.4 Optical Genome Mapping (OGM) 197
- 6. Metodi molecolari 198
  - 6.1 Analisi molecolari mirate locus specifiche: Sanger, reverse dot-blot, MLPA e qPCR 198

6.1.1 Metodi basati su PCR e sequenziamento Sanger 198
6.1.2 Pannelli di ibridazione su strip e reverse dot-blot 198
6.1.3 MLPA e qPCR per microdelezioni/microduplicazioni ricorrenti 198
6.2 NGS short-reads 199
6.3 WGS long-reads 199
7. Principali applicazioni cliniche delle analisi molecolari mirate nell'infertilità maschile 200
7.1 Analisi del gene CFTR nei quadri ostruttivi 200
7.2 Geni della differenziazione sessuale e dell'asse ipotalamo–ipofisi–gonadi 200
7.3 Microdelezioni del cromosoma Y 201
7.4 Analisi del genoma spermatico 201
7.4.1 Aneuploidie spermatiche 201
7.5 Test di frammentazione del DNA spermatico 202
7.6 Approcci epigenetici emergenti 202
8. Integrazione delle metodiche in un percorso diagnostico pratico 202
9. Conclusioni 203
Bibliografia 203

16. Significato biologico della frammentazione del DNA spermatico

Abstract 212
1. Introduzione 212
2. Meccanismi biologici della frammentazione del DNA 212
2.1 Apoptosi: il "suicidio cellulare" strategico dell'organismo 212
2.2 Necrosi e autofagia 213
3. Frammentazione del DNA spermatico 213
3.1 Cause e implicazioni cliniche 213
3.2 La carenza di fattori di sopravvivenza: un fattore chiave nell'apoptosi spermatica 214
3.3 Apoptosi fisiologica: lo smaltimento post-coito degli spermatozoi 214
3.4 Apoptosi e selezione spermatica: un bilancio naturale infranto dalle tecnologie di riproduzione assistita (ART) 215
3.5 Alterazione della sostituzione degli istoni con le protammine 216
3.6 Lo stress ossidativo 218
4. Conclusioni 219
Bibliografia 219

17. Metodiche di laboratorio per la valutazione della frammentazione del DNA degli spermatozoi

Abstract 222
1. Introduzione 222
2. Principali tecniche di individuazione del danno al DNA spermatico 222
3. Caratteristiche del campione per l'esame del DFI 223
4. Metodiche per la valutazione della frammentazione del DNA spermatico 224
4.1 Comet assay 224
4.2 SCSA 224
4.3 SCD test 225
4.4 TUNEL Test 226
4.4.1 Striscio sul vetrino 226
4.4.2 Principio del saggio TUNEL 226
4.4.3 Controllo positivo e negativo 228
4.4.4 Osservazione al microscopio a fluorescenza 229
5. Interpretazione dei risultati e significato clinico 229
Bibliografia 230

MICRORGANISMI CHE INFLUENZANO L'APPARATO RIPRODUTTORE MASCHILE E LA QUALITÀ DEL LIQUIDO SEMINALE

18. Epidemiologia dei microrganismi responsabili dell'infertilità maschile

- Abstract 234
- 1. Introduzione 234
- 2. Microbiota del tratto genitale maschile 235
- 3. Microrganismi responsabili di Infezioni sessualmente trasmesse (IST) e impatto sulla salute sessuale e riproduttiva 236
  - 3.1 Batteri 237
  - 3.2 Virus 237
  - 3.3 Miceti 238
  - 3.4 Parassiti (Protozoi e Trematodi) 238
- 4. Epidemiologia e sorveglianza delle IST 238
- 5. Conclusioni 241

Bibliografia 242

19. Il ruolo delle infezioni batteriche e protozoarie nell'infertilità maschile

- Abstract 246
- 1. Introduzione 246
- 2. Meccanismi attraverso cui le infezioni influenzano la fertilità 247
  - 2.1 Infiammazione e stress ossidativo 247
  - 2.2 Microbiota maschile e fertilità: ciò che si sa oggi 247
- 3. Impatto dei microrganismi sulle patologie del tratto riproduttivo maschile 249
  - 3.1 L'orchite 249
  - 3.2 Il varicocele 250
  - 3.3 Prostatite 251
  - 3.4 Il ruolo dei microrganismi nell'oligozoospermia, astenospermia e azoospermia 252
- 4. Principali patogeni implicati nell'infertilità maschile 254
  - 4.1 *Chlamydia trachomatis* 254
  - 4.2 *Neisseria gonorrhoeae* 254
  - 4.3 *Mycoplasma* spp e *Ureaplasma* spp 255
  - 4.4 *Trichomonas vaginalis* *255*
  - 4.5 *Treponema pallidum* *255*
  - 4.6 *Escherichia coli* *256*
- 5. Tabella riassuntiva 257
- 6. Conclusioni 258

Bibliografia 259

20. Microbiota e Infertilità

- Abstract 262
- 1. Introduzione 262
- 2. Il "gut-brain axis" 263
- 3. Microbiota e infertilità 264
  - 3.1 Meccanismi legati alla steroidogenesi 265
  - 3.2 Meccanismi indipendenti dalla steroidogenesi 266
- 4. Microbiota seminale 267
- 5. Conclusioni 268

Bibliografia 268

21. Metodiche di laboratorio per l'identificazione dei microrganismi associati ad infertilità maschile

- Abstract 272

- 1. Introduzione 272
- 2. Raccolta del campione biologico e considerazioni iniziali 273
  - 2.1 Liquido seminale 274
  - 2.2 Urine 274
  - 2.3 Secrezioni delle vie urogenitali 274
  - 2.4 Precauzioni raccolta, conservazione e trasporto del campione 274
- 3. Valutazione del campione biologico per l'esame colturale 275
- 4. Metodiche di coltura microbiologica 275
  - 4.1 Coltura su terreno standard 276
- 5. La colorazione di Gram 278
- 6. Tecniche molecolari 278
  - 6.1 *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 278
  - 6.2 Tecniche isoterme 279
  - 6.3 Sequenziamento del gene 16S rRNA / metagenomica 279
  - 6.4 Ricerca molecolare HPV-DNA 279
- 7. Altre metodiche 280
  - 7.1 Test immunologici 280
  - 7.2 Spettrometria di massa (MALDI-TOF MS) 280
  - 7.3 Ibridazione molecolare FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) 281
  - 7.4 Microarray 281
  - 7.5 Tecniche complementari e indici di infezione/infiammazione 281
- 8. Conclusioni 281

Bibliografia 282

Terapie e nutrizione

22. Terapie ormonali: quando sono indicate e come prescriverle

- Abstract 288
- 1. Introduzione 288
- 2. Iter diagnostico nel paziente infertile 289
- 3. Trattamento ormonale: Quando? 289
- 4. Trattamento ormonale: Come? 290
  - 4.1 Trattamento con FSH 290
  - 4.2 Trattamento con hCG 292
  - 4.3 SERM ed inibitori dell'aromatasi 292
  - 4.4 Testosterone transdermico 293
- 5. Conclusioni 293

Bibliografia 294

23. Terapie non ormonali: quando sono indicate e come prescriverle

- Abstract 298
- 1. Introduzione 298
- 2. Il ruolo delle terapia antibiotica 299
- 3. Il ruolo del trattamento antinfiammatorio e fibrinolitico nell'infertilità maschile 301
- 4. Il ruolo dello stress ossidativo e razionale dell'uso di antiossidanti nell'infertilità maschile 303
- 5. Conclusioni 307

Bibliografia 307

24. La moderna alimentazione e i rischi per la salute riproduttiva

- Abstract 316
- 1. Introduzione 316
- 2. Sostanze chimiche e interferenti endocrini 317

2.1 Interferenti endocrini, metodi di cottura e MOCA 318
3. Eccesso di zuccheri e obesità 318
4. Stile di vita e fertilità maschile 319
5. Grassi saturi e trans 320
6. Alimenti protettivi per la fertilità 320
7. Sintesi dei principali determinanti nutrizionali e comportamentali della fertilità maschile 321
8. Conclusioni 322
Bibliografia 322

aderenza a procedure validate, affidabilità delle attrezzature, idoneità e pronta reperibilità dei materiali necessari all'erogazione delle prestazioni.

L'obiettivo è assicurare processi efficaci e riproducibili, generare risultati clinicamente affidabili e offrire un servizio soddisfacente per l'utenza e per tutti gli operatori coinvolti, interni ed esterni. In questa logica, la voce dei pazienti (soddisfazione, reclami, suggerimenti) e la partecipazione proattiva di tutte le figure professionali (segnalazioni, proposte di miglioramento, gestione di NC/ACAP) sono essenziali per alimentare il miglioramento continuo dell'SGQ. Solo così è possibile garantire continuità operativa, sicurezza e affidabilità del servizio nel tempo.

Dal 17 luglio 2024 è in vigore il Regolamento (UE) 2024/1938 sulle sostanze di origine umana, che unifica e aggiorna gli standard di qualità e sicurezza per sangue, tessuti e cellule destinati ad applicazione clinica, abrogando le Direttive 2002/98/CE e 2004/23/CE. Il Regolamento introduce requisiti armonizzati in tema di autorizzazione/accreditamento degli operatori, tracciabilità, vigilanza su eventi e reazioni avverse e procedure proporzionate al rischio; la piena applicazione è prevista dal 7 agosto 2027. I laboratori di andrologia e le unità di PMA dovranno pertanto allineare SGQ, POS e sistemi di tracciabilità ai nuovi obblighi SoHO e monitorare i relativi atti tecnici attuativi.

Bibliografia

D.Lgs. 25 gennaio 2010, n. 16 – Attuazione delle direttive 2006/17/CE e 2006/86/CE: prescrizioni tecniche per donazione/approvvigionamento/controllo; tracciabilità, codifica (SEC), SAE/SAR, lavorazione, conservazione, stoccaggio, distribuzione.

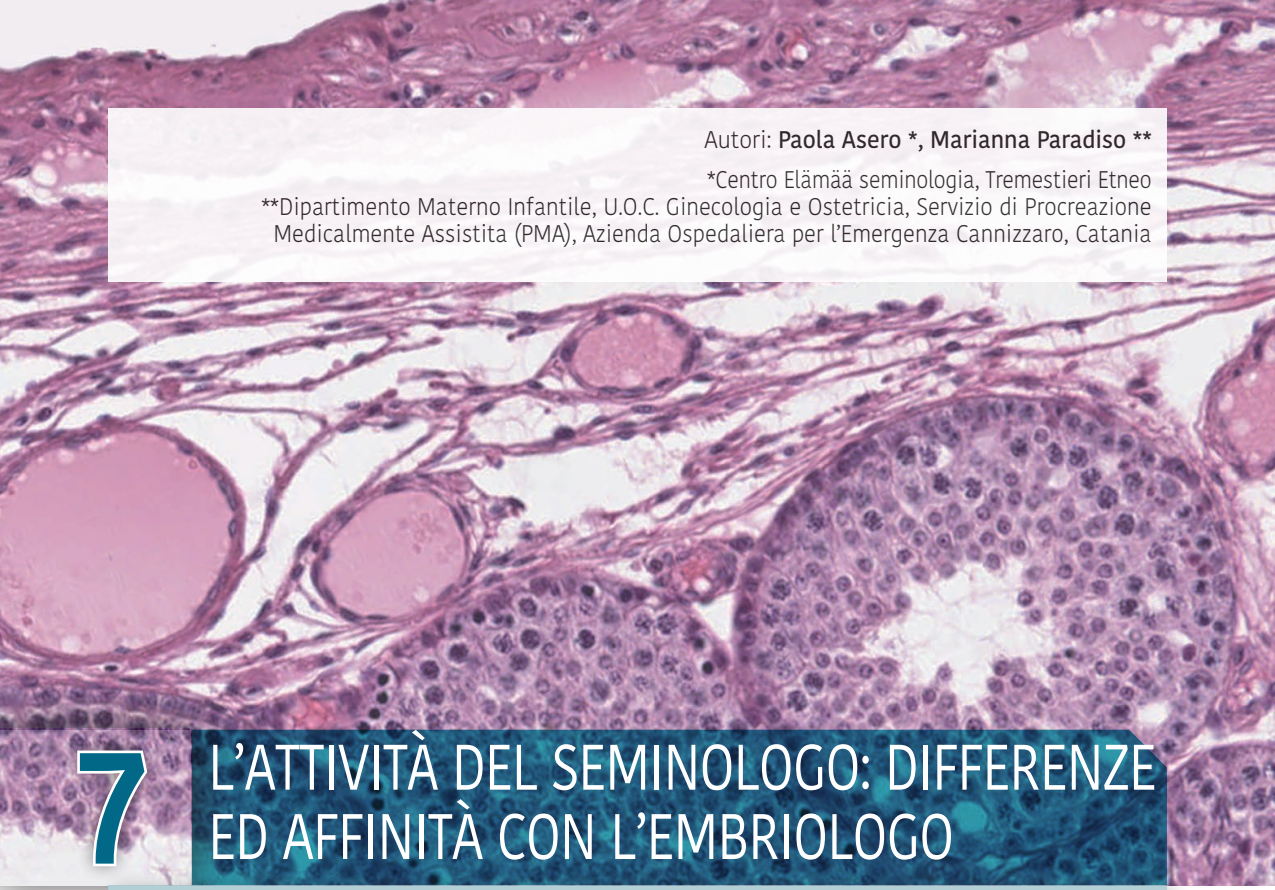
D.Lgs. 6 novembre 2007, n. 191 – Attuazione della direttiva 2004/23/CE su qualità e sicurezza di tessuti e cellule umani; ambito: donazione, approvvigionamento, controllo, lavorazione, conservazione, stoccaggio, distribuzione e prodotti derivati.

Direttiva 2004/23/CE del Parlamento europeo e del Consiglio (31 marzo 2004) – Quadro UE su qualità e sicurezza per tessuti e cellule umani.

ISO 15189 (UNI EN ISO 15189:2022/2024) – Requisiti di qualità e competenza per laboratori medici; transizione all'edizione 2022 entro 7 dicembre 2025 (indicazioni di UNI/EA/ILAC).

ISO 9001 (UNI EN ISO 9001:2015/A1:2024) – Sistemi di gestione per la qualità — Requisiti; con Emendamento 1 "Climate action changes".

SoHO: Regolamento (UE) 2024/1938 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 13 giugno 2024, sui parametri di qualità e sicurezza per le sostanze di origine umana destinate all'applicazione sugli esseri umani, che abroga le direttive 2002/98/CE e 2004/23/CE. Pubblicato in GUUE il 17 luglio 2024. CELEX: 32024R1938.



Autori: **Paola Asero *, Marianna Paradiso ****

*Centro Elämää seminologia, Tremestieri Etneo
**Dipartimento Materno Infantile, U.O.C. Ginecologia e Ostetricia, Servizio di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), Azienda Ospedaliera per l'Emergenza Cannizzaro, Catania

7 L'ATTIVITÀ DEL SEMINOLOGO: DIFFERENZE ED AFFINITÀ CON L'EMBRIOLOGO

SOMMARIO

- Abstract
- 1. L'attività del seminologo
- 2. La formazione del seminologo e campi di applicazione
- 3. Diagnostica
- 4. Crioconservazione dei gameti maschili: banca del seme
- 5. Il ruolo del seminologo nella PMA
- 6. Tecniche di separazione nemaspermica
- 7. Ricerca scientifica
- 8. L'attività dell'embriologo: Aspetti normativi e ruolo delle Società Scientifiche
- 9. Formazione e competenze
- 10. Procedure e gestione del laboratorio
- 11. Crioconservazione
- 12. Diagnosi pre-impianto
- 13. Gestione del laboratorio
- 14. Affinità tra seminologia e embriologia
- 15. Differenze tra seminologo e embriologo
- 16. Conclusioni

Abstract

Il capitolo descrive la figura del seminologo, delineandone ruolo, formazione e ambiti di applicazione, definendolo come uno specialista nella valutazione della fertilità maschile e nello studio della fisiopatologia spermatica in un contesto multidisciplinare. Vengono approfondite le principali attività di cui si occupa, ovvero la diagnostica seminologica, la preparazione del liquido seminale per la riproduzione medicalmente assistita, la crioconservazione e la ricerca scientifica. Ampio spazio è dedicato anche all'embriologo clinico, con particolare attenzione alla formazione, competenze, responsabilità e aspetti normativi. Infine, sono evidenziate affinità e differenze tra le due figure, sottolineando l'importanza della loro integrazione per ottimizzare i percorsi diagnostico-terapeutici e gli esiti riproduttivi.

Parole chiave: spermatozoi, seminologia, ovociti, embriologia, fertilità, formazione, riproduzione, PMA.

1. L'attività del seminologo

Il seminologo è un professionista qualificato che si occupa della valutazione del liquido seminale (o sperma) e di tutto ciò che è correlato alla fisiopatologia e alla funzionalità degli spermatozoi, svolgendo un ruolo importante nella valutazione, diagnosi e trattamento dell'infertilità maschile. L'attività del seminologo si svolge di solito in collaborazione con altri specialisti, quali andrologi, urologi, endocrinologi, ginecologi, psicologi e sessuologi per garantire ai pazienti una cura integrata. La seminologia, intesa come disciplina, richiede l'acquisizione di competenze altamente specialistiche, tra cui una solida conoscenza dell'andrologia e delle disfunzioni sessuali e riproduttive maschili. A ciò si affiancano abilità diagnostiche di laboratorio, la capacità di selezionare le metodologie più appropriate per ciascun caso clinico e una costante familiarità con protocolli, linee guida e raccomandazioni scientifiche aggiornate.

2. La formazione del seminologo e campi di applicazione

La formazione del seminologo, inteso come biologo esperto in seminologia, presume una laurea magistrale in biologia e/o lauree equiparate, seguita da un percorso formativo specialistico nel laboratorio di andrologia. A questa formazione di base, può seguire una di secondo livello mediante il conseguimento di master, corsi di formazione o dottorati di ricerca riguardanti l'andrologia e/o la medicina della riproduzione. Facoltativa è una formazione aggiuntiva in aree specialistiche come la genetica, la microbiologia, la patologia e la biochimica clinica. Dopo la fase di formazione è ancora indispensabile un costante e continuo aggiornamento, finalizzato a conoscere le nuove scoperte e tecnologie nel campo seminologico, oltre che le più aggiornate linee guida e raccomandazioni scientifiche. Il percorso formativo è pertanto ultraspecialistico e di continuo aggiornamento, finaliz-

zato ad acquisire e mantenere competenze necessarie ad eseguire un'attenta e corretta valutazione dei parametri convenzionali e non convenzionali del liquido seminale. La seminologia trova applicazione nell'ambito della diagnostica andrologica e nei centri di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), dove si cerca di ripristinare e/o trattare l'infertilità maschile, occupandosi nello specifico di diagnostica, crioconservazione (banche del seme), PMA, e ricerca scientifica.

3. Diagnostica

La diagnostica seminologica prevede valutazioni laboratoristiche in grado di comprendere lo stato di salute dell'apparato uro-genitale, permettere lo studio del potenziale di fertilità maschile e fare prevenzione. Il primo esame consigliato, nell'inquadramento di una patologia uro-andrologica, è difatti l'esame del liquido seminale che è caratterizzato dall'essere un'analisi estremamente operatore-dipendente, e pertanto ad altissimo rischio di soggettività. Da ciò è nata nei decenni l'esigenza di una standardizzazione della metodica che ha portato alla stesura da parte dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) di linee guida (l'attuale è la VI edizione; WHO, 2021). Nonostante ciò, il potenziale di fertilità maschile non è completamente compreso con lo studio dei soli parametri convenzionali (motilità, concentrazione, morfologia), per cui non ci sono valori di riferimento assoluti in grado di discriminare in modo inequivocabile gli uomini fertili da quelli infertili (Hamada et al., 2011). Negli anni, all'esame base del liquido seminale, sono stati aggiunti esami laboratoristici, noti come test funzionali, in grado di valutare l'integrità cromatinica del DNA spermatico (Carrell et al., 2003; Esteves et al., 2021), lo studio dell'immunologia spermatica mediante la ricerca anticorpi antispermatozoo (Francavilla et al., 2007; Lombardo et al., 2001) e lo studio dello stato infiammatorio delle ghiandole sessuali accessorie maschili (Dutta et al., 2025). La diagnostica seminologica rappresenta quindi uno *step* imprescindibile nell'iter diagnostico del paziente andrologico, che permette di valutare la funzione riproduttiva e lo stato di salute generale maschile, fornendo informazioni fondamentali sia sul piano diagnostico e sia su quello prognostico e terapeutico.

4. Crioconservazione dei gameti maschili: banca del seme

Le banche del seme sono strutture sanitarie che si occupano della raccolta, crioconservazione e distribuzione di gameti maschili per trattamenti di PMA. La legge italiana e le normative sanitarie competenti regolano l'attività dei centri di PMA, e delle banche del seme associate e sono autorizzati e controllati dalle autorità sanitarie regionali/nazionali per garantire la qualità e la sicurezza delle procedure. Il seminologo svolge un ruolo fondamentale nella banca del seme, essendo responsabile della valutazione, del trattamento e della crioconservazione dei gameti maschili. Le varie tecniche di crioconservazione sono finalizzate a preservare la vitalità e qualità degli spermatozoi anche dopo il congelamento, e prevedono diversi *step*:

- Si effettuano esami specifici per i marcatori infettivologici e in caso di positività il campione verrà stoccato in contenitori dedicati;

- Il giorno della crioconservazione, il liquido seminale deve essere raccolto dal paziente in locali dedicati, ubicati all'interno della banca del seme, e solo in caso di difficoltà non superabili, la raccolta può avvenire in luoghi esterni;
- Si consiglia un periodo di astinenza sessuale di 2-7 giorni, che in caso di urgenza di inizio delle terapie può non essere considerato;
- Si esegue l'esame del liquido seminale e, se di buona qualità, mediante test di selezione spermatica si recuperano gli spermatozoi migliori;
- Nel caso di severe oligozoospermie possono essere richieste invece più raccolte, per garantire il raggiungimento di un numero adeguato di spermatozoi;
- Gli spermatozoi da crioconservare vengono trattati con crioprotettori per evitare la formazione di cristalli di ghiaccio;
- Le *paillettes* con gli spermatozoi da crioconservare, una volta preparate, vengono sigillate e conservate in azoto liquido seguendo i passaggi previsti dal protocollo che si sta utilizzando;
- È necessario registrare l'esatta ubicazione del campione in registri dedicati;
- Vengono utilizzati sistemi di monitoraggio come previsto dal sistema di qualità interno;
- Il seminologo pertanto gestisce le *paillettes* congelate, assicurandosi che siano correttamente etichettate e conservate ad una temperatura adeguata; monitora la qualità dei campioni crioconservati, provvedendo a routinari controlli dell'azoto liquido per assicurare la continua e costante temperatura di -196 °C; lavora a stretto contatto con il *team* di riproduzione medicalmente assistita per garantire che i campioni di seme siano utilizzati in modo efficace e sicuro; può fornire, infine, una consulenza ai pazienti sulla conservazione del seme e sulle opzioni di trattamento da eseguire.

4.1 Campioni crioconservati

Il liquido seminale crioconservato può provenire da eiaculato o da prelievo dall'epididimo o dal testicolo mediante *Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration* - MESA, *Testicular Sperm Extraction* - TESE, *Microscopic Testicular Sperm Extraction* - MICROTESE (Westlander et al., 2020). In questo caso il seminologo ha un ruolo fondamentale nella ricerca, recupero e trattamento degli spermatozoi.

4.2 Applicazioni cliniche della crioconservazione

I campioni di liquido seminale vengono crioconservati ai fini di prevenzione nei pazienti che devono sottoporsi a chemioterapie/radioterapie (Anger et al., 2003; Justice et al., 2013; Saito et al., 2005), nei pazienti che devono sottoporsi a vasectomia (Marinaro et al., 2021; Degreave et al., 2022), negli uomini esposti per motivi professionali a sostanze potenzialmente genotossiche, nei pazienti che hanno difficoltà alla raccolta del campione seminale il giorno della PMA (psicologiche o logistiche), nei pazienti con severa oligoastenoteratozoospermia (OAT), che presentano transitori miglioramenti della qualità del seme, nei pazienti con eiaculazione retrograda e nei pazienti criptozoospermici.

5. Il ruolo del seminologo nella PMA

Il seminologo svolge un ruolo fondamentale all'interno del centro di PMA contribuendo a migliorare le possibilità di successo e adempiendo a diverse mansioni quali:

- Valutazione della fertilità maschile (diagnostica seminologica)
- Preparazione e selezione degli spermatozoi per le tecniche di fecondazione assistita
- Crioconservazione
- Consulenza ai pazienti
- Sviluppo di piani di trattamento
- Monitoraggio dei risultati

Nell'ambito della PMA uno *step* cruciale riguarda il recupero degli spermatozoi da utilizzare al momento della tecnica. Esistono diverse tecniche che il biologo può impiegare e la scelta dell'una o dell'altra va decisa in base alle caratteristiche iniziali del campione.

6. Tecniche di separazione nemaspermica

La capacitazione degli spermatozoi può essere ottenuta *in vitro* in appositi mezzi di coltura ed è necessaria per la fertilizzazione *in vitro* (Travert et al., 2009; Saex-Espinosa et al., 2020). Le metodiche di preparazione dello sperma consentono di separare gli spermatozoi dal plasma seminale, selezionare gli spermatozoi dotati di migliore motilità, conservarne la motilità nel tempo e fornire un campione incontaminato. L'efficienza delle tecniche di separazione nemaspermica fa riferimento alla percentuale media massima di spermatozoi recuperati e dipende sia dalle caratteristiche del campione di partenza che dalla tecnica di separazione utilizzata (Aitken et al., 1983). Le principali tecniche di selezione nemaspermica sono riportate di seguito:

- **Swim up diretto:** gli spermatozoi vengono selezionati sfruttando la loro abilità di migrare dal plasma seminale al medium di coltura stratificato sopra.
- **Swim up da pellet:** si basa sulla capacità degli spermatozoi di muoversi e migrare dal pellet al terreno di coltura sovrastante. Il pellet si ottiene dopo una fase di lavaggio del campione intero, il surnatante si elimina e si aggiunge un'aliquota di terreno di coltura su cui migreranno i migliori spermatozoi.
- **Gradienti di densità discontinui:** utilizza la centrifugazione del seme su un gradiente di densità di silice colloidale, i migliori spermatozoi per motilità e morfologia verranno concentrati sul fondo della provetta formando un pellet.
- **Magnetic-Activated Cell Sorting (MACS) - Annexin V:** permette di recuperare una popolazione di spermatozoi altamente funzionale, con bassa percentuale di cellule apoptotiche e bassi livelli di frammentazione del DNA (Grunewald and Paasch, 2013). Questa tecnica di separazione nemaspermica consente quindi una selezione basata su aspetti molecolari.

La crescente esigenza di nuove metodiche ha indotto ricercatori e seminologi a esplorare la relazione tra le caratteristiche morfologiche dello spermatozoo e lo stato di integrità del DNA, rappresentando uno dei principali e più promettenti filoni di ricerca nell'ambito della seminologia.

7. Ricerca scientifica

La ricerca scientifica è fondamentale in ambito andrologico per ampliare le conoscenze sugli spermatozoi, migliorare *screening* e prevenzione delle patologie, approfondire le cause dell'infertilità maschile aprendo a nuove prospettive terapeutiche. Le principali aree di ricerca includono:

- Ricerca di base: studio dei meccanismi cellulari e molecolari che regolano la spermatogenesi al fine di comprendere meglio le cause dell'infertilità maschile; studio funzionale degli spermatozoi e meccanismi che regolano la loro motilità, vitalità e potenziale di fertilizzazione.
- Ricerca applicata: sviluppo di nuovi trattamenti per l'infertilità maschile, come la terapia genica o la medicina rigenerativa; miglioramento delle tecniche di riproduzione assistita: nuovi metodi di selezione o *marker* diretti di qualità nemaspermica al fine di fornire spermatozoi altamente funzionali per le procedure di PMA.
- Collaborazione con altri ricercatori: *Team* di ricerca e collaborazioni internazionali per progettare e condurre studi di ricerca multidisciplinari.
- Pubblicazioni su riviste scientifiche, divulgazione dei risultati: pubblicare i risultati delle proprie ricerche scientifiche su riviste specializzate in andrologia e riproduzione umana, oltre che presentare i risultati delle ricerche effettuate a conferenze scientifiche nazionali ed internazionali.

8. L'attività dell'embriologo: Aspetti normativi e ruolo delle Società Scientifiche

A partire dalla fine degli anni '70 e l'inizio degli anni '80, professionisti con esperienza nelle colture di gameti/embrioni o nei sistemi di coltura cellulare collaborarono con i clinici per creare i primi laboratori di Riproduzione Medicalmente Assistita. Questi pionieri includevano scienziati provenienti da campi biologici o biomedici di base, veterinari con esperienza pratica nella riproduzione animale, oltre a persone con altri *background*. Da allora la medicina della riproduzione ha conosciuto uno sviluppo e una crescita esponenziale, in particolare grazie ai progressi negli aspetti di laboratorio della riproduzione medicalmente assistita. Ben presto divenne evidente che la qualità del lavoro di laboratorio era fondamentale per il successo dei trattamenti di PMA. La necessità di conoscenze e competenze specifiche per la manipolazione di gameti ed embrioni umani, per l'esecuzione di procedure ad alta tecnologia e per garantire costantemente condizioni di coltura di elevata qualità portò alla nascita di una nuova disciplina della medicina di laboratorio: l'Embriologia Clinica. La rapida evoluzione tecnologica di questo settore, e più in generale dell'Embriologia applicata, le modifiche del quadro normativo ed il recepimento delle direttive europee hanno notevolmente influenzato l'applicazione delle tecniche di riproduzione assistita con un rilevante impatto sulle diverse professionalità coinvolte nel settore, in particolare quella del biologo che ricopre un ruolo cardine in questo percorso. La richiesta di specifiche competenze per la corretta gestione di gameti e di embrioni durante l'iter diagnostico e terapeutico risulta indispensabile per la tutela della salute degli assistiti e per la riuscita dei trattamenti. Nel 2006 la società scientifica europea più rappresentativa del settore, l'*European Society of Hu-*

man Reproduction and Embryology (ESHRE), ha realizzato un riconoscimento formale che prevede due livelli di certificazione: uno per embriologi clinici di alto profilo professionale (*Senior*) e l'altro per embriologi clinici di base (*Clinical*). Per la prima volta, in mancanza di una disciplina specifica, l'ESHRE identifica anche un numero minimo di prestazioni richieste e non soltanto un arco temporale di documentata esperienza come criterio di accesso all'esame per l'ottenimento della certificazione. In attesa della regolamentazione di un percorso istituzionale univoco, la Società Italiana di Embriologia, Riproduzione e Ricerca (SIERR), con l'approvazione dell'Ordine Nazionale dei Biologi (ONB), si sono poste l'obiettivo di colmare questo vuoto, cercando di esprimere una definizione il più possibile precisa e condivisa del ruolo professionale e della responsabilità dell'embriologo clinico. Tali società fanno riferimento, oltre che alla legislazione vigente e ad un parere del Comitato Nazionale Universitario (CUN) del 2010, a quanto definito nelle più accreditate linee guida internazionali che sono attualmente la base per l'accreditamento della figura dell'embriologo clinico da parte delle società scientifiche internazionali. La carenza di un riconoscimento formale della figura dell'embriologo clinico ha spinto nel 2010 la Società Italiana di Embriologia, Riproduzione e Ricerca a richiedere un parere al Consiglio Universitario Nazionale (CUN) al riguardo. Il Consiglio Universitario Nazionale, definisce l'Embriologo Clinico come segue: laureato magistrale in Biologia (LM-6) e lauree equiparate che possa dimostrare attraverso certificazioni adeguate un training di almeno 2 anni in un laboratorio di PMA (Documento per la definizione del profilo professionale dell'Embriologo Clinico - Prot. N. 1626 del 17 dicembre 2010-Prot. N. 1626 del 17 dicembre 2010).

9. Formazione e competenze

Il percorso per identificare la figura professionale dell'embriologo clinico passa attraverso un *training* di almeno 2 anni in un laboratorio di PMA, periodo durante il quale deve aver espletato il seguente numero minimo di procedure (Tabella 1):

Procedure	Numero
Pick-up ovocitario	50*
Analisi del liquido seminale	50*
Preparazione del liquido seminale	50*
Inseminazione Standard (FIV)	50*
ICSI	50*
Valutazione di zigoti e embrioni	50*
Trasferimenti embrionari	50*
Crioconservazione di ovociti/embrioni	50*
Scongelamento di ovociti/embrioni	50*

TABELLA 1 N° procedure training formazione embriologo (Documento per la definizione del profilo professionale dell'Embriologo Clinico - Prot. N. 1626 del 17 dicembre 2010) *tali numeri devono essere associati ad una percentuale di esiti positivi superiore ai valori minimi riportati in letteratura come indicatori di competenza.

Il registro relativo a tali procedure dev'essere controfirmato dal responsabile del laboratorio embriologico o dal responsabile del Centro che certifichi la veridicità del documento. L'Embriologo Clinico per poter ricoprire il ruolo di responsabile di laboratorio deve aver maturato almeno 6 anni di esperienza presso strutture nazionali in possesso dei requisiti per l'accesso al Registro Nazionale della PMA o presso strutture straniere che rispettino programmi sovranazionali di formazione riconosciuti dalle autorità competenti. Il professionista deve inoltre aver eseguito in prima persona almeno 200 procedure di secondo livello (ICSI/FIV) e deve poter dimostrare di aver partecipato a specifiche attività di formazione per la gestione della qualità e della sicurezza nei laboratori di PMA. Sulla base delle linee guida pubblicate dall'ESHRE (De los Santos et al., 2015) e delle norme attualmente vigenti in materia di Riproduzione Medicalmente Assistita si definiscono le responsabilità e le competenze dell'embriologo clinico. Al fine di garantire una più chiara definizione dei compiti svolti dal biologo in un laboratorio di embriologia clinica si riporta schematicamente di seguito un elenco dei ruoli che ricopre il professionista, differenziando la figura dell'embriologo clinico dal responsabile di laboratorio (Tabella 2).

10. Procedure e gestione del laboratorio

In un trattamento di PMA, l'embriologo pur lavorando spesso dietro le quinte, è lui a "dare vita" in laboratorio alle prime fasi dello sviluppo embrionale. Le attività svolte interessano varie fasi del processo:

10.1 Manipolazione dei gameti

10.1.1 Pick-up e selezione ovocitaria

Sebbene la prima gravidanza al mondo "in provetta" sia stata ottenuta mediante la fecondazione di un solo ovocita ottenuto su ciclo spontaneo, il successivo impiego di farmaci per l'induzione della crescita follicolare multipla ha permesso di migliorare significativamente i risultati clinici (Hughes et al., 1992), al fine di ottenere più ovociti, in modo da poter effettuare un'accurata selezione prima delle tecniche. Il prelievo degli ovociti (o *pick up* ovocitario) rappresenta la fase finale della stimolazione ovarica. Circa 34-36 ore dopo l'induzione dell'ovulazione si esegue l'aspirazione eco-guidata del liquido follicolare. Tale procedura chirurgica si effettua in sala operatoria in analgosedazione. Il laboratorio di embriologia, comunicante tramite un pass-box, è un ambiente controllato e protetto in modo da ridurre al minimo i fattori tossici ambientali, la luce e i cambiamenti di temperatura che possono danneggiare gli ovociti prelevati (GMP ANNEX 1 Rev 2022 "Fabbricazione di prodotti farmaceutici sterili" - Norma di riferimento: scopo, raccomandazioni, riferimenti attuativi, limiti di riferimento; *European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care* EDQM 5th Edition 2022 "Guida alla qualità e sicurezza di tessuti e cellule per l'applicazione umana"; UNI EN ISO 14644; UNI EN ISO 17141). Il liquido follicolare recuperato all'interno di una provetta viene consegnato direttamente all'embriologo ed immediatamente esaminato al microscopio per la ricerca degli ovociti e per l'analisi della loro maturità. La qualità dell'ovocita è influenzata da varie componenti:

- genoma nucleare e mitocondriale
- microambiente fornito dall'ovaio e dal follicolo pre-ovulatorio, che condiziona la trascrizione, la traduzione e, di conseguenza, la maturità citoplasmatica

Embriologo Clinico	Responsabile di Laboratorio embriologico
• Analisi del liquido seminale • Selezione nemaspermica • Scelta ed esecuzione delle tecniche di fecondazione (ICSI/FIV) • Selezione degli spermatozoi da prelievi bioptici testicolari per ICSI • Selezione degli spermatozoi da aspirati testicolari e/o epididimari per ICSI • Attribuzione della qualità dei gameti • Attribuzione della qualità degli ovociti fecondati e degli embrioni • Scelta ed esecuzione della coltura degli embrioni fino allo stadio di blastocisti • Scelta e preparazione degli embrioni da trasferire in cavità uterina • Trasferimento degli embrioni, con il supporto del ginecologo, in cavità uterina • Scelta e validazione delle tecniche di crioconservazione di cellule e tessuti riproduttivi • Biopsia a scopo diagnostico di globuli polari, blastomeri o trofectoderma • Produzione e valutazione di indicatori di performance di laboratorio • Consulenza tecnica relativa alla fase diagnostica e al percorso di Fecondazione Assistita • Validazione dei processi • Partecipazione alla programmazione dei cicli e alla gestione del ciclo di Fecondazione Assistita • Registrazione delle varie procedure • Redazione ed ottemperanza alle diverse Procedure Operative Standard • Organizzazione e gestione delle bio-banche di cellule riproduttive crioconservate • Coordinamento del trasporto di cellule e tessuti riproduttivi tra i diversi centri • Partecipazione alla valutazione per la selezione dei donatori nel caso di Fecondazione Eterologa	• Scelta degli strumenti • Scelta dei materiali e dei terreni di coltura per gameti ed embrioni • Scelta dei sistemi di coltura di gameti ed embrioni • Organizzazione strutturale del Laboratorio • Garanzia di un sistema di gestione della qualità efficace all'interno del laboratorio • Valutazione e autorizzazione delle Procedure Operative Standard • Gestione dei contatti con fornitori di beni e servizi • Garanzia della conformità degli ambienti e delle procedure alle normative vigenti e agli standard di qualità e sicurezza • Verifica e Valutazione della formazione, del mantenimento e del miglioramento delle competenze del personale di laboratorio • Autorizzazione dell'introduzione di nuove tecniche • Garanzia di un adeguato numero di personale competente per la copertura del carico lavorativo • Gestione dei turni e reperibilità del personale di laboratorio

TABELLA 2 Differenze tra Embriologo Clinico e Responsabile di Laboratorio (Documento per la definizione del profilo professionale dell'Embriologo Clinico-Prot. N. 1626 del 17 dicembre 2010)

F. Giacone • L. Bosco • G. Ruvolo

Seminologia
e apparato riproduttore

EdiSES EDIZIONI

ISBN 978-88-3623-265-9