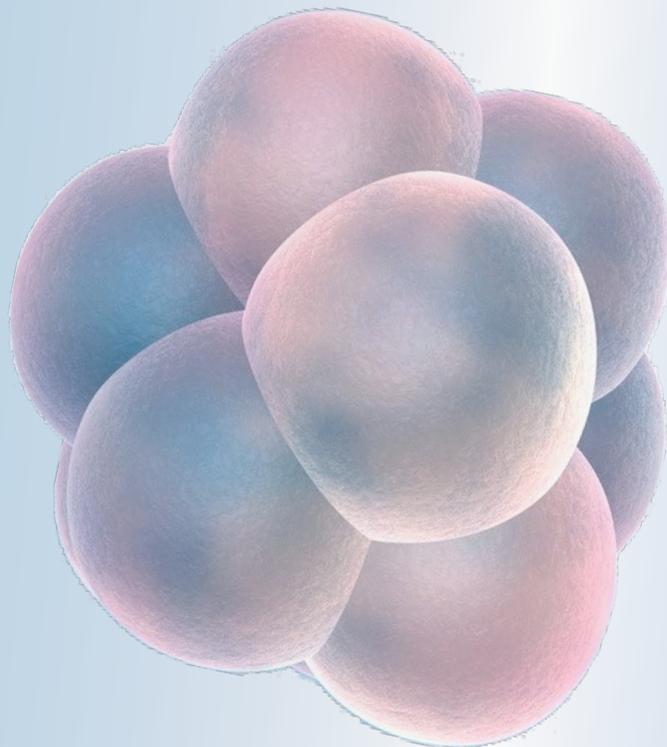
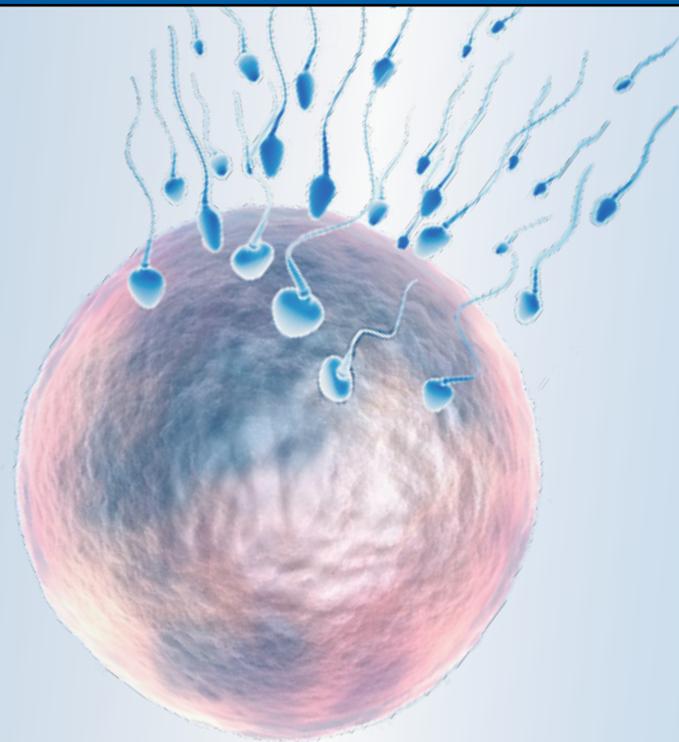


# BIOLOGIA e TECNICHE della RIPRODUZIONE

*a cura di* **Lucia Rocco**

*Edizione digitale*

Natalia Battista  
Giovanni Battista Bernardini  
Liana Bosco  
Antonio Capalbo  
Angela Catizone  
Fulvio Cesaroni  
Nicola Colacurci  
Vincenzo Cuniato  
Mariabeatrice Dal Canto  
Massimo De Felici  
Umberto Galderisi  
Csilla Gabriella Krausz  
Mauro Maccarrone  
Filomena Mottola  
Antonio Novelli  
Cinzia Rapino  
Giulia Ricci  
Maria Carmela Roccheri  
Lucia Rocco  
Marianna Santonastaso  
Vincenzo Stingo  
Carlo Trotta  
Daniela Zuccarello



# BIOLOGIA e TECNICHE della RIPRODUZIONE

## BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE DELLA RIPRODUZIONE

- 1 Anatomia del sistema genitale
- 2 Meiosi
- 3 Spermatogenesi
- 4 Oogenesi
- 5 Ormoni, fattori di crescita e riproduzione
- 6 Determinazione del sesso
- 7 Fecondazione
- 8 Sviluppo embrionale
- 9 Riproduzione e fecondazione: meccanismi e strategie
- 10 Cellule staminali:  
caratteristiche e potenzialità terapeutiche

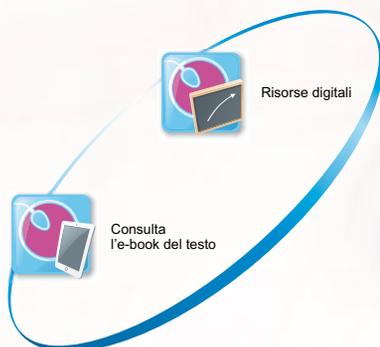
## INFERTILITÀ UMANA

- 11 Infertilità umana: cause, diagnosi e terapia
- 12 Esame del liquido seminale
- 13 Infezioni urogenitali e infertilità
- 14 Fattori genetici dell'infertilità
- 15 Tecniche per lo screening genetico dell'infertilità
- 16 Qualità del DNA spermatico e infertilità
- 17 Basi biochimiche della fertilità

## TECNOLOGIE LEGATE ALLA RIPRODUZIONE UMANA

- 18 Crioconservazione di gameti ed embrioni
- 19 Stimolazione ormonale e induzione dell'ovulazione
- 20 Tecniche di procreazione medicalmente assistita
- 21 Coltura degli embrioni
- 22 Maturazione in vitro degli oociti
- 23 Micromanipolazione di gameti ed embrioni
- 24 Diagnosi genetica preimpianto

## VIRTUAL CAMPUS



# BIOLOGIA e TECNICHE della RIPRODUZIONE

## QUATTRO OPERAZIONI PER ACCEDERE AI CONTENUTI DIGITALI

- 1 COLLEGATI** Collegarsi al sito indicato sull'etichetta che riporta il codice di accesso
- 2 REGISTRATI** Registrarsi (solo la prima volta) per ricevere username e password
- 3 ACCEDI** Inserire username e password per accedere ai contenuti riservati
- 4 DIGITA IL CODICE** Digitare il codice personale di accesso posizionato sotto la protezione dell'etichetta applicata su questa pagina

Dopo il primo accesso i contenuti digitali saranno disponibili nella pagina web inserendo username e password.

L'accesso online prevede l'accettazione della **licenza personale** limitata a un **singolo utilizzatore** per ciascun codice.

L'accesso è **permesso all'utente individuale** e non consente l'utilizzo di licenze di accesso per biblioteca o per istituzione.

La **condivisione di password e/o codice non è permessa** e qualsiasi tentativo di uso improprio del codice personale invaliderà lo stesso, rendendolo inutilizzabile. L'accesso non può essere condiviso e scadrà secondo le modalità temporali definite nel contratto di licenza di utilizzo che si sottoscrive al primo accesso.

Ulteriori dettagli potranno essere forniti all'atto dell'accettazione del contratto di licenza di utilizzo. L'impiego dei codici è soggetto all'accettazione delle condizioni d'uso. Non sarà accettata la resa di un testo che presenti la manomissione della protezione del codice.

### Requisiti hardware e software:

personal computer con sistema operativo Windows, Macintosh o Linux  
browser internet di ultima generazione quali: Internet Explorer (a partire dalla versione 9), Firefox, Chrome ecc.; connessione Internet.

**Help desk tecnico:** disponibile all'indirizzo di posta elettronica: [tutortecnico@eenet.it](mailto:tutortecnico@eenet.it)

Rimuovere la protezione grattando  
con una moneta  
o un oggetto simile

**Per accedere all'area digitale  
Virtual Campus  
seguire le istruzioni alla pagina  
<http://dginfo.digibook24.it>**



# **BIOLOGIA e TECNICHE della RIPRODUZIONE**



# BIOLOGIA e TECNICHE della RIPRODUZIONE

*a cura di* Lucia Rocco

Natalia Battista  
Giovanni Battista Bernardini  
Liana Bosco  
Antonio Capalbo  
Angela Catizone  
Fulvio Cesaroni  
Nicola Colacurci  
Vincenzo Cuniato  
Mariabeatrice Dal Canto  
Massimo De Felici  
Umberto Galderisi  
Csilla Gabriella Krausz  
Mauro Maccarrone  
Filomena Mottola  
Antonio Novelli  
Cinzia Rapino  
Giulia Ricci  
Maria Carmela Roccheri  
Lucia Rocco  
Marianna Santonastaso  
Vincenzo Stingo  
Carlo Trotta  
Daniela Zuccarello

***edi-ermes***

**Biologia e tecniche della riproduzione • Prima edizione**

*a cura di* Lucia Rocco

Hanno collaborato: Natalia Battista, Giovanni Battista Bernardini, Liana Bosco, Antonio Capalbo, Angela Catizone, Fulvio Cesaroni, Nicola Colacurci, Vincenzo Cuniato, Mariabeatrice Dal Canto, Massimo De Felici, Umberto Galderisi, Csilla Gabriella Krausz, Mauro Maccarrone, Filomena Mottola, Antonio Novelli, Cinzia Rapino, Giulia Ricci, Maria Carmela Roccheri, Lucia Rocco, Marianna Santonastaso, Vincenzo Stingo, Carlo Trotta, Daniela Zuccarello

Copyright © 2021 Edi.Ermes s.r.l. - Milano

ISBN 978-88-7051-747-7 - Edizione a stampa

ISBN 978-88-7051-748-4 - Edizione digitale

*Tutti i diritti letterari e artistici sono riservati. I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica, di riproduzione e di adattamento totale o parziale, con qualsiasi mezzo (compresi i microfilm e le copie fotostatiche) sono riservati per tutti i Paesi.*

Le fotocopie per uso personale del lettore possono essere effettuate nei limiti del 15% di ciascun volume/fascicolo di periodico dietro pagamento alla SIAE del compenso previsto dall'art. 68, commi 4 e 5, della legge 22 aprile 1941 n. 633. Le fotocopie effettuate per finalità di carattere professionale, economico o commerciale o comunque per uso diverso da quello personale possono essere effettuate a seguito di specifica autorizzazione rilasciata da CLEARedi, Centro Licenze e Autorizzazioni per le Riproduzioni Editoriali, Corso di Porta Romana 108, 20122 Milano, e-mail [autorizzazioni@clearedi.org](mailto:autorizzazioni@clearedi.org) e sito web [www.clearedi.org](http://www.clearedi.org).

L'Editore, per quanto di propria spettanza, considera rare le opere fuori del proprio catalogo editoriale. La riproduzione a mezzo fotocopia degli esemplari esistenti nelle biblioteche di tali opere è pertanto consentita, senza limiti quantitativi. Non possono considerarsi rare le opere di cui esiste, nel catalogo dell'Editore, una successiva edizione, le opere presenti in catalogo di altri Editori o le opere antologiche.

Un libro è il prodotto finale di una serie molto articolata di operazioni che esige numerose verifiche sui testi e sulle immagini.

È quasi impossibile pubblicare un volume senza errori.

Saremo grati a quanti, avendone riscontrato la presenza, vorranno comunicarci.

Per segnalazioni o suggerimenti relativi a questo volume vogliate utilizzare il seguente indirizzo:

Relazioni esterne - Edi.Ermes srl - viale Enrico Forlanini, 65 - 20134 Milano

Tel. 02.70.21.121 - Fax 02.70.21.12.83

e-mail: [redazione@enet.it](mailto:redazione@enet.it)

L'Editore è a disposizione degli aventi diritto con i quali non è stato possibile comunicare, nonché per eventuali involontarie omissioni e inesattezze nella citazione delle fonti o dei brani riprodotti nel presente volume.

Disegni di Andrea Rossi Raccagni, Andrea Bellingeri, Marco Fanuli e Raffaella Stilo/Archivio Edi.Ermes

Stampato nel mese di maggio da Logo srl - Borgoricco (PD)

per conto di Edi.Ermes - viale Enrico Forlanini, 65 - 20134 Milano

<http://www.ediermes.it> - tel. 02.70.21.121 - fax 02.70.21.12.83

# PREFAZIONE

L'insieme dei fenomeni alla base dei meccanismi riproduttivi costituisce da sempre uno dei più affascinanti capitoli della biologia. Con il passare degli anni, insieme a un gruppo di Colleghi, abbiamo sempre più sentito l'esigenza di disporre di un testo aggiornato sull'argomento, che considerasse il continuo ampliarsi delle conoscenze, anche in relazione alle innovazioni in ambito tecnologico e metodologico-sperimentale messe a disposizione dalla comunità scientifica. È nata così l'idea di scrivere un volume diretto *in primis* ai nostri studenti dei corsi di laurea in Biologia e Biotecnologie, ma anche a professionisti impegnati in attività formative post laurea, come master o corsi di perfezionamento su tematiche attinenti, o semplicemente desiderosi di svolgere le loro attività lavorative nel campo della riproduzione, nonché a quanti necessitano di un aggiornamento continuo.

Il libro tratta i meccanismi cellulari e molecolari coinvolti nei processi riproduttivi, sia umani sia di specie animali. Il linguaggio è semplice, ma rigoroso, e la trattazione è accattivante dal punto di vista grafico. L'opera offre, inoltre, la possibilità di soddisfare eventuali curiosità scientifiche e culturali. Per questo le conoscenze certe e fondamentali costituiscono il nucleo fondamentale del testo, mentre le nozioni più avanzate o di approfondimento e quelle comunque ritenute importanti, sulle quali, però, non esiste ancora consenso unanime nella comunità scientifica, sono state inserite in specifici riquadri.

Il piano generale dell'opera prevede una prima sezione in cui sono stati descritti i contenuti ritenuti basilari per la comprensione della biologia della riproduzione umana e animale. Essi comprendono l'anatomia del sistema genitale, la gametogenesi e la fecondazione. Sono quindi descritte le strategie e le modalità riproduttive presenti in molti vertebrati, anche non mammiferi. Vengono poi trattati lo svilup-

po embrionale e la determinazione del sesso e, infine, le caratteristiche e le potenzialità delle cellule staminali. Una seconda sezione, interamente dedicata alle problematiche legate all'infertilità umana, fornisce ampio spazio alle procedure diagnostiche e alle metodologie di laboratorio che sono utilizzate per accertare le cause d'infertilità maschile, femminile e di coppia. La terza sezione è rivolta alle metodologie di laboratorio legate alla procreazione medicalmente assistita. Ulteriori approfondimenti di rilevanza clinica sono stati inseriti in appendici. Ogni capitolo è stato strutturato tenendo conto di precisi sussidi didattici: illustrazioni schematiche e immagini al microscopio, termini in colore e concetti chiave che riassumono i contenuti più importanti e consentono un rapido richiamo all'argomento specifico.

Il libro ha un valore aggiunto, perché inserito all'interno di un progetto multimediale, la piattaforma online *Virtual Campus*, accessibile attraverso un codice presente nel volume stesso. In questo modo l'opera mantiene elevato e costante il suo aggiornamento, per quanto riguarda metodiche, tecniche, esemplificazioni, casistiche, cioè quanto utile al professionista interessato alla riproduzione. In *Virtual Campus* sono disponibili risorse digitali che consentono di fruire di aggiuntivi e aggiornati approfondimenti.

Ovviamente questo progetto è stato reso possibile grazie alla completa e profonda conoscenza delle tematiche proposte da tutti gli Autori coinvolti, un team costituito da personalità eccellenti provenienti dal mondo accademico, ma anche da professionisti altamente qualificati. Il mio ringraziamento va a tutti loro.

Per concludere desidero ringraziare l'editore Raffaele Grandi, per aver creduto in questo progetto, Adriana Lombardi, per la sua dedizione e il suo continuo sostegno agli Autori, ed Elena di Toma, per la sua elevata competenza e la sua infinita pazienza.

Napoli, 5 maggio 2021

Lucia Rocco

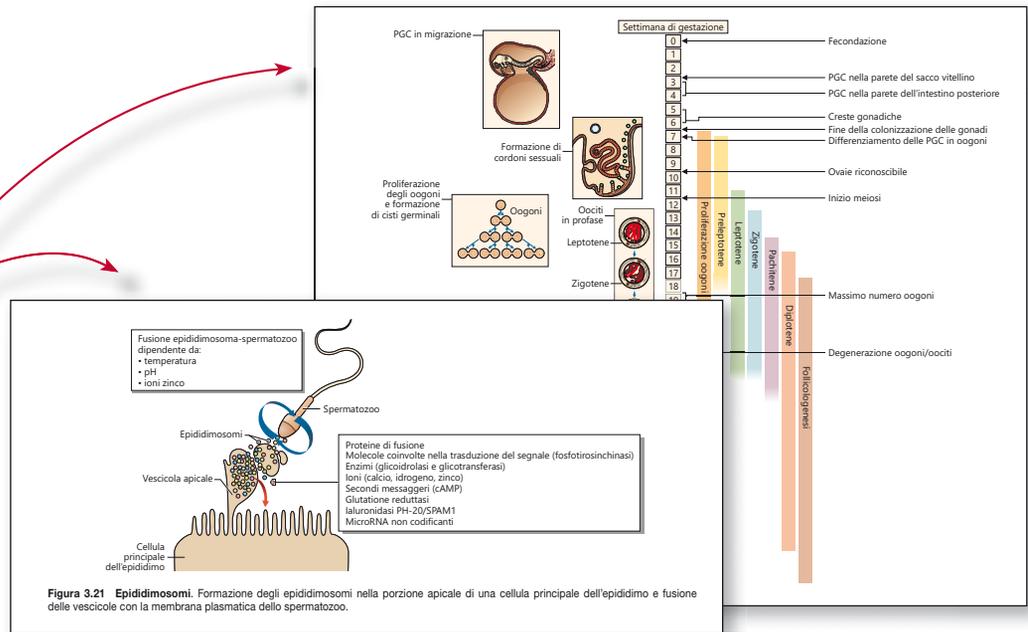
# Organizzazione dell'opera

Il testo affronta i temi della biologia e delle tecniche della riproduzione in modo semplice e chiaro, proponendo allo studente vari livelli di approfondimento secondo le sue curiosità e aspettative.

La trattazione si sviluppa intorno a punti cardine fondamentali presentati in maniera esaustiva e accattivante dal punto di vista grafico. Molti sono gli elementi di supporto offerti, tra cui la ricca iconografia, i numerosi approfondimenti, le appendici e i concetti chiave.

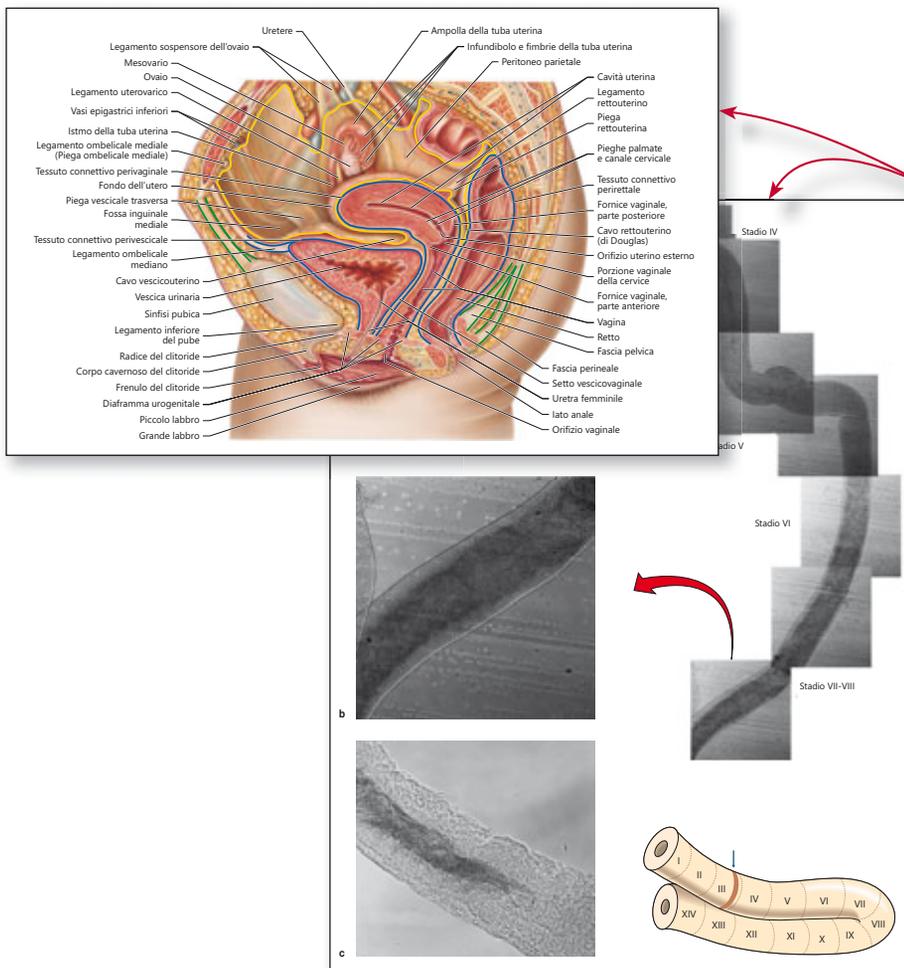
## Visualizzazione

L'ampio apparato iconografico, comprensivo di disegni, *flowchart* e grafici, arricchisce il testo e aiuta lo studente grazie a un apprendimento di tipo visivo.



## Morfologia macroscopica e microscopica

Le immagini di microscopia e le precise illustrazioni anatomiche e istologiche coadiuvano lo studente nella comprensione delle basi morfologiche della biologia della riproduzione.



## Riquadri di approfondimento e appendici

Gli approfondimenti e le appendici analizzano in dettaglio aspetti specifici legati alla fisiopatologia della riproduzione e alle più moderne tecniche e metodologiche di indagine.

### APPENDICE I MODELLI ANIMALI NELLO STUDIO DEL CONTROLLO ORMONALE DELLA GAMETOGENESI

La generazione dei **topi knock out (KO)** ha fatto chiarezza su molti punti fondamentali della biologia cellulare e molecolare. Nel topo KO viene sperimentalmente eliminato dal genoma un gene di interesse a livello delle cellule staminali

le FLC (Cap. 6) fosse sotto il controllo proprio della stimolazione di questo recettore. La mancata alterazione dello sviluppo testicolare dei topi LHRKO ha permesso per la prima volta di stabilire che la produzione di testosterone da parte delle cellule staminali è sotto controllo diretto e dallo stimolo mediato

mostrano diverse alterazioni nei topi LHRKO di sesso femminile: infertilità anovulatoria e

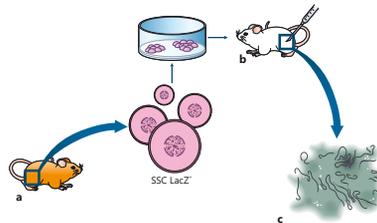


#### POTENZIALITÀ CLINICHE DELLE CELLULE STAMINALI SPERMATOGONIALI

Le cellule staminali spermatogoniali (SSC) sia del topo sia dei primati descritte nel testo sono state oggetto di numerosi studi, soprattutto per le potenzialità che esse potrebbero presentare in ambito clinico. È ormai noto, infatti, che in animali resi sperimentalmente sterili è possibile ripristinare la spermatogenesi inoculando nel testicolo una popolazione di cellule germinali arricchita in SSC (figura). Questa biotecnologia è stata applicata con successo su mammiferi quali il topo e la scimmia e si stanno facendo ricerche per comprendere se sia applicabile, senza rischi per la salute, anche nell'uomo. In questo caso la tecnica prevedrebbe il prelievo di una biopsia testicolare prima di un trattamento farmacologico che potrebbe rivelarsi citotossico per le SSC del paziente. Da questa biopsia si dovrebbe isolare la frazione di SSC, amplificarla e mantenerla *in vitro* per poi reimpiantarla nel testicolo del paziente, al termine del trattamento farmacologico, in modo da ripristinare la spermatogenesi. In alternativa, si sta studiando la possibilità di riuscire a far differenziare *in vitro* le SSC fino allo stadio di spermatozoi; questi ultimi potrebbero essere utili-

zzati successivamente per le tecniche di fecondazione assistita nell'uomo.

Sebbene il protocollo di crioconservazione del tessuto testicolare sia già in uso nella pratica clinica, la tecnica di amplificazione *in vitro* delle cellule staminali spermatogoniali e la tecnica del trapianto non garantiscono ancora sufficiente efficienza e sicurezza. Questa tecnica sarebbe clinicamente rilevante per consentire la fertilità anche a soggetti che abbiano perso, per esempio a seguito di trattamento con chemioterapici, le cellule germinali staminali. In particolare, i pazienti che potrebbero avere vantaggio dall'applicazione clinica di questa biotecnologia sono coloro i quali sono andati incontro a trattamenti chemioterapici, tossici per le cellule germinali, in età pediatrica, quando quindi, il testicolo non ha completato la spermatogenesi e non è possibile crioconservare il seme. Per questo motivo, è però necessario sviluppare protocolli che garantiscano che la popolazione di SSC trapiantate sia esente da elementi staminali tumorali che potrebbero attecchire e far ammalare nuovamente il paziente.



**Trapianto di cellule staminali spermatogoniali (SSC) in topi resi sterili mediante trattamento con agenti chemioterapici o radiazioni.** Le SSC vengono prelevate dal testicolo di un topo donatore transgenico (a), che esprime il gene reporter lacZ nelle cellule germinali, e impiantate nel testicolo del topo reso sterile (b). Dopo un periodo di diversi mesi, le SSC colonizzano i tubuli seminiferi del testicolo del topo ricevente e ristabiliscono la spermatogenesi. Il gene lacZ codifica per l'enzima  $\beta$ -galattosidasi. Le cellule lacZ-positive possono essere evidenziate tramite incubazione con X-galattosio; questo viene scisso dalla  $\beta$ -galattosidasi producendo galattosio e un composto blu insolubile (c).

## Concetti chiave

Alla fine di ciascun capitolo i concetti chiave riassumono i contenuti più importanti e consentono un rapido richiamo dell'argomento specifico.

### CONCETTI CHIAVE



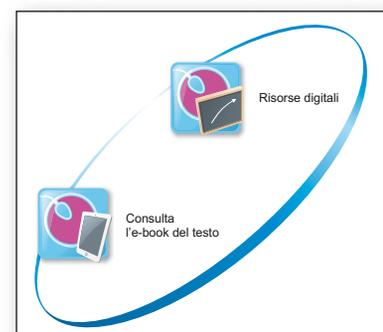
- ♦ La **riproduzione sessuale** (o gamica) genera un nuovo individuo grazie alla fusione di due gameti, quello maschile (spermatozoo) e quello femminile (oocito), mediante l'accoppiamento. Questo tipo di riproduzione comporta una ricombinazione genica, che produce individui non identici ai genitori. Poiché aumenta considerevolmente la variabilità della specie, la riproduzione sessuale risulta particolarmente favorevole qualora si verificino condizioni ambientali avverse o mutevoli.
- ♦ Il **corteggiamento** è una fase preparatoria dell'accoppiamento che consente un avvicinamento e un riconoscimento senza far scattare reazioni di difesa. Di solito è il maschio della specie che usa vari stratagemmi per sedurre la femmina, anche se ci sono eccezioni.
- ♦ La **competizione spermatica** è un fenomeno che prevede una serie di eventi in cui gli eiaculati provenienti da due o più maschi competono per la fecondazione della femmina. Essa si verifica comunemente in molte specie di vertebrati ed è una potente forza evolutiva che influenza la biologia riproduttiva maschile.
- ♦ Numerosi approcci hanno suggerito che le femmine svolgano un ruolo attivo nella competizione spermatica, ma i meccanismi alla base, soprattutto quelli genetici, rimangono ancora poco conosciuti. Comunque, sembra essere dimostrato che sia la competizione spermatica tra maschi sia la scelta del "migliore" da parte della femmina spesso agiscono sul meccanismo dell'**iperattivazione spermatica**.
- ♦ Nei mammiferi e, quindi, anche nell'uomo, il sesso si determina attraverso il **sistema XY**, in cui il sesso eterogameto è determinato dalla presenza del cromosoma Y.



Il volume è arricchito da una piattaforma *online* (**Virtual Campus**), accessibile attraverso il codice riportato nel frontespizio. Le risorse disponibili in quest'area virtuale sono **lezioni online** che consentono un approccio visivo e coinvolgente agli argomenti di studio.

Il codice abilita anche il **download della versione digitale del libro**. Le istruzioni sono disponibili nella piattaforma.

Sia l'accesso alla piattaforma sia la consultazione del libro digitale sono disponibili per un periodo di tempo limitato a partire dalla registrazione del codice.



# Hanno collaborato all'opera

**Natalia Battista**

Università degli Studi di Teramo

**Giovanni Battista Bernardini**

Università degli Studi dell'Insubria

**Liana Bosco**

Università degli Studi di Palermo

**Antonio Capalbo**

Igenomix Italia, Roma

**Francesca Caprio**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Angela Catizone**

Sapienza, Università di Roma

**Fulvio Cesaroni**

Laboratorio Medicina della Riproduzione  
ASL Napoli 1 Centro, Ospedale San Paolo, Napoli

**Francesca Cioppi**

Università degli Studi di Firenze

**Nicola Colacurci**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Vincenzo Cuniato**

Microbiologo, Napoli

**Mariabeatrice Dal Canto**

Centro Biogenesi, Istituti Clinici Zucchi, Monza (MB)

**Massimo De Felici**

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

**Maria Diletta D'Eufemia**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Umberto Galderisi**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Csilla Gabriella Krausz**

Università degli Studi di Firenze

**Mauro Maccarrone**

Università degli Studi dell'Aquila

**Filomena Mottola**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Antonio Novelli**

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

**Cinzia Rapino**

Università degli Studi di Teramo

**Giulia Ricci**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Maria Carmela Roccheri**

Università degli Studi di Palermo

**Lucia Rocco**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Marianna Santonastaso**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Nunzia Scudiero**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Tiziana Squillaro**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Vincenzo Stingo**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Carlo Trotta**

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

**Daniela Zuccarello**

UOC Genetica ed Epidemiologia clinica  
Azienda Ospedaliera di Padova

# INDICE

## Prima sezione BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE DELLA RIPRODUZIONE

<b>1</b>	<b>ANATOMIA DEL SISTEMA GENITALE ..</b>	3			
	Abbozzi delle gonadi .....	3			
	Differenziamento ovarico .....	4			
	Differenziamento testicolare .....	4			
	<b>Sistema genitale maschile .....</b>	4			
	Testicoli .....	5			
	Morfologia esterna e involucri .....	5			
	Morfologia interna .....	6			
	Morfologia microscopica .....	6			
	<i>Cellule germinali</i> .....	6			
	<i>Cellule di sostegno dell'epitelio</i> <i>spermatogenico o di Sertoli</i> .....	7			
	<i>Cellule interstiziali o di Leydig</i> .....	7			
	📌 <i>Fattori che influenzano la spermatogenesi</i> .....	8			
	Vie spermatiche .....	8			
	Tubuli seminiferi retti .....	8			
	<i>Rete testis</i> e condottini efferenti .....	9			
	Epididimo .....	9			
	Dotto deferente .....	9			
	Dotto eiaculatore .....	10			
	Funicolo spermatico .....	10			
	Uretra maschile .....	10			
	Ghiandole annesse .....	11			
	Vescicole seminali .....	11			
	Prostata .....	11			
	Ghiandole bulbouretrali .....	12			
	Pene .....	12			
	Organi erettili .....	12			
	Involucri del pene .....	13			
	<b>Sistema genitale femminile .....</b>	13			
	Ovaio .....	14			
	Morfologia macroscopica .....	14			
	Morfologia microscopica .....	14			
	Tube uterine .....	15			
	Morfologia macroscopica .....	15			
	Morfologia microscopica .....	15			
	Utero .....	16			
	Morfologia esterna .....	16			
	Morfologia interna .....	17			
	Modificazioni dell'utero in relazione alla funzione .....	17			
	Morfologia microscopica .....	17			
	<i>Tonaca sierosa: perimetrio</i> .....	17			
	<i>Tonaca muscolare: miometrio</i> .....	17			
	<i>Tonaca mucosa: endometrio</i> .....	18			
	Vagina .....	19			
	Morfologia esterna .....	19			
	Morfologia interna .....	19			
	Morfologia microscopica .....	19			
	Vulva .....	20			
	📌 <b>Concetti chiave</b> .....	22			
	Lecture consigliate .....	22			
<b>2</b>	<b>MEIOSI .....</b>	23			
	<b>Stadi della meiosi .....</b>	24			
	Duplicazione del DNA .....	24			
	Prima divisione meiotica .....	25			
	📌 <i>Crossing over</i> .....	26			
	Seconda divisione meiotica .....	26			
	<b>Meiosi nell'oogenesi</b> <b>e nella spermatogenesi .....</b>	27			
	📌 <i>Complesso sinaptonemale</i> .....	28			
	📌 <i>Aneuploidie cromosomiche</i> .....	28			
	📌 <b>Concetti chiave</b> .....	30			
	Lecture consigliate .....	30			
<b>3</b>	<b>SPERMATOGENESI .....</b>	31			
	<b>Componente somatica: le cellule di Sertoli .....</b>	32			
	Funzioni delle cellule di Sertoli .....	32			
	Interazione tra cellule di Sertoli e cellule mioidi peritubulari .....	33			
	Interazione tra cellule di Sertoli e cellule germinali mitotiche .....	34			
	Interazione tra cellule di Sertoli e cellule germinali meiotiche e postmeiotiche .....	35			
	<b>Barriera ematotesticolare .....</b>	37			
	Funzioni della barriera ematotesticolare .....	37			
	📌 <i>Dinamismo della barriera       ematotesticolare in relazione       con l'evento spermatogenetico</i> .....	38			
	Struttura della barriera ematotesticolare .....	40			

Strutture giunzionali e molecole coinvolte nella loro formazione	40
<i>Giunzioni occludenti</i>	40
<i>Giunzioni aderenti</i>	42
<i>Giunzioni comunicanti</i>	43
Relazione tra complessi giunzionali e citoscheletro	43
<b>Cellule germinali maschili:</b>	
<b>differenziamento prenatale e postnatale</b>	44
Fase mitotica e differenti popolazioni di spermatogoni	44
Spermatogoni staminali, indifferenziati e differenzianti nel topo	45
<i>Cinetica di amplificazione</i>	45
Spermatogoni staminali, indifferenziati e differenzianti nell'uomo	46
<i>Cinetica di amplificazione</i>	47
Fase meiotica:	
dagli spermatociti agli spermatidi	48
 <i>Potenzialità cliniche delle cellule staminali spermatogoniali</i>	49
Spermiogenesi e formazione degli spermatozoi testicolari	50
Maturazione degli spermatozoi	53
Popolazioni cellulari dell'epididimo	53
Fluido epididimale	54
<i>Epididimosomi</i>	55
Destino degli spermatozoi non eiaculati	56
<b>Ciclo dell'epitelio seminifero</b>	56
Stadi dell'epitelio seminifero nel topo e nel ratto	56
Stadi dell'epitelio seminifero umano	59
<b>Appendice - Anomalie del differenziamento della linea germinale maschile:</b>	
<b>blocco differenziativo e insorgenza di lesioni tumorali</b>	61
 <b>Concetti chiave</b>	65
Lecture consigliate	65
<b>4 OOGENESI</b>	67
<b>Formazione delle cellule germinali primordiali</b>	68
Embrioni murini	68
Embrione umano	68
<b>Formazione degli abbozzi gonadici</b>	68
 <i>Meccanismi molecolari della formazione delle cellule germinali primordiali nel topo</i>	69
<b>Colonizzazione degli abbozzi gonadici</b>	70
<b>Sviluppo e differenziamento delle ovaie</b>	71
Geni che controllano lo sviluppo delle ovaie	72
 <i>Ciclo ovarico e follicologenesi nella donna</i>	74

 <b>Concetti chiave</b>	76
Lecture consigliate	76

<b>5 ORMONI, FATTORI DI CRESCITA E RIPRODUZIONE</b>	77
<b>Asse ipotalamo-ipofisi-gonade</b>	77
Ormone di liberazione delle gonadotropine	78
Kisspeptina	78
Regolazione della produzione di kisspeptina	80
Gonadotropine ipofisarie:	
ormoni luteinizzante e follicolo-stimolante	80
Ormoni gonadici	80
Testosterone	81
Estrogeni	81
Altre molecole segnale	81
Inibine	81
Attivine	81
Endocannabinoidi	82
<b>Regolazione ormonale della spermatogenesi</b>	82
Ruolo dell'ormone follicolo-stimolante	82
Attività mitotica	82
Produzione di fattore neurotrofico derivato dalla glia	83
Produzione del fattore SCF/KITLG	83
Sintesi di sostanze utili per il metabolismo e il differenziamento delle cellule germinali	83
Regolazione della barriera ematotesticolare	83
Produzione di inibina e attivina	83
Produzione di ormone antimülleriano	84
Espressione dell'enzima aromatasi	84
Fertilità maschile	84
Ruolo dell'ormone luteinizzante e del testosterone	84
Funzioni del testosterone	85
Ruolo del diidrotestosterone e degli estrogeni	86
Diidrotestosterone	86
Estrogeni	86
<b>Fattori di crescita e controllo della spermatogenesi:</b>	
<b>autocrinia e paracrinia del testicolo</b>	88
Interleuchine	89
Superfamiglia dei fattori di crescita trasformanti $\beta$	89
Acido retinoico	89
<b>Regolazione ormonale e controllo locale dell'oogenesi</b>	90
Regolazione della fase follicolare preantrale	90
Mantenimento della riserva di follicoli primordiali e transizione a follicolo primario e secondario	90
Regolazione della fase follicolare antrale	92
Controllo dell'ovulazione	93
Ripresa della meiosi	93
Promozione della fase ovulatoria	95

Controllo della fase luteinica:	
luteogenesi e luteolisi .....	95
Relazione tra ciclo ovarico e ciclo uterino .....	97
 <i>Gli interferenti endocrini</i> .....	100
<b>Appendice - I modelli animali nello studio</b>	
<b>del controllo ormonale della gametogenesi</b> .....	103
Topi LHRKO .....	103
Topi FSHRKO .....	103
Topi ARKO .....	104
Topi $\alpha$ ERKO, $\beta$ ERKO e $\alpha\beta$ ERKO .....	105
 <b>Concetti chiave</b> .....	106
Lecture consigliate .....	106

<b>6</b>	<b>DETERMINAZIONE DEL SESSO</b> .....	107
	Sesso cromosomico, gonadico e fenotipico .....	107
	<b>Meccanismi morfogenetici che controllano</b>	
	<b>lo sviluppo del sistema genitale</b>	
	<b>di mammifero</b> .....	108
	Formazione della cresta gonadica .....	108
	Sviluppo del testicolo .....	110
	 <i>Migrazione delle cellule mesonefriche</i>	
	<i>verso il testicolo</i> .....	111
	Sviluppo dell'ovaio .....	112
	Sviluppo delle vie e degli organi genitali	
	da primordi comuni .....	113
	<b>Basi molecolari della formazione</b>	
	<b>della gonade indifferenziata</b> .....	115
	<b>Basi molecolari della determinazione del sesso</b> ...	116
	Geni coinvolti nella determinazione	
	della gonade maschile .....	117
	Ruolo di <i>SRY</i> .....	117
	Ruolo di <i>SOX9</i> .....	117
	Geni coinvolti nella determinazione	
	della gonade femminile .....	118
	Ruolo di <i>DAX1</i> .....	118
	Ruolo di <i>FOXL2</i> .....	119
	Ruolo di altre molecole segnale .....	120
	Eventi molecolari necessari	
	all'acquisizione del sesso fenotipico .....	120
	Regressione dei dotti di Müller nel maschio ...	120
	Differenziamento dei dotti di Wolff	
	nel maschio .....	121
	Differenziamento dei dotti di Müller	
	e regressione dei dotti di Wolff	
	nella femmina .....	121
	<b>Imprinting genomico delle cellule germinali</b>	
	<b>maschili e femminili</b> .....	122
	<b>Appendice - Le anomalie</b>	
	<b>del differenziamento gonadico:</b>	
	<b>patologie umane e modelli animali</b> .....	124
	DSS cromosomici .....	125
	DSS 46,XY .....	125
	DSS 46,XX .....	126

Patologie umane e modelli animali .....	126
 <b>Concetti chiave</b> .....	129
Lecture consigliate .....	129

<b>7</b>	<b>FECONDAZIONE</b> .....	131
	<b>Caratteristiche dei gameti</b> .....	131
	Uovo prima della fecondazione .....	131
	Morfologia microscopica .....	131
	<i>Vitello</i> .....	131
	<i>RNA e ribosomi</i> .....	132
	<i>Fattori morfogenetici</i> .....	132
	<i>Nucleo tetraploide</i> .....	132
	Tipi di uova .....	132
	Membrane ovariali .....	133
	Spermatozoo prima della fecondazione .....	135
	<b>Caratteristiche del processo</b>	
	<b>di fecondazione</b> .....	135
	Modalità di fecondazione .....	135
	 <i>Morfologia degli spermatozoi</i> .....	136
	Fecondazione esterna .....	136
	Fecondazione interna .....	137
	Incontro fra spermatozoo e uovo .....	137
	Strategie riproduttive .....	138
	Oviparità .....	138
	Ovoviviparità .....	138
	Viviparità .....	138
	<b>Echinodermi</b> .....	138
	Contatto fra spermatozoo e oocito .....	138
	Penetrazione dello spermatozoo nell'oocito .....	140
	Formazione dello zigote .....	141
	<b>Pesci</b> .....	141
	<b>Anfibi</b> .....	141
	Penetrazione dello spermatozoo nell'uovo .....	141
	Forme giovanili e metamorfosi .....	142
	<b>Sauropsidi</b> .....	142
	<b>Mammiferi</b> .....	143
	Spermatozoi nelle vie genitali femminili .....	143
	Tappe fondamentali della fecondazione .....	144
	Formazione dello zigote umano .....	147
	 <b>Concetti chiave</b> .....	149
	Lecture consigliate .....	150

<b>8</b>	<b>SVILUPPO EMBRIONALE</b> .....	151
	<b>Segmentazione</b> .....	151
	Caratteristiche e modalità della segmentazione ..	151
	Segmentazione oloblastica: ricci di mare .....	152
	Segmentazione oloblastica: anfibi .....	154
	Segmentazione meroblastica: pesci e uccelli .....	154
	Segmentazione meroblastica nei pesci .....	154
	Segmentazione meroblastica negli uccelli .....	156
	Segmentazione nei mammiferi .....	157
	Compattazione dei blastomeri .....	157

Estrusione della blastocisti dalla zona pellucida e annidamento	157
<b>Gastrulazione</b>	158
Caratteristiche e modalità della gastrulazione	159
Gastrulazione nei ricci di mare	160
Gastrulazione nei pesci	161
Gastrulazione negli anfibi	162
Gastrulazione nei sauropsidi	164
Gastrulazione nei mammiferi	165
Destino dei foglietti germinativi	166
Differenziamento dell'ectoderma	167
Differenziamento del mesoderma	168
<i>Mesoderma parassiale: somiti</i>	169
<i>Mesoderma intermedio</i>	169
<i>Mesoderma della piastra laterale</i>	169
Differenziamento dell'endoderma	169
<b>Morfogenesi:</b>	
sviluppo embrionale precoce nell'uomo	171
<b>Annessi embrionali</b>	172
Annessi embrionali degli anamni	172
Annessi embrionali degli amnioti	172
Sacco vitellino	172
Amnios	173
Allantoide	173
Corion	173
Cordone ombelicale	173
Placenta	174
<i>Placentazione</i>	174
<i>Tipi di placenta</i>	175
<b>Appendice - Apoptosi e autofagia nello sviluppo embrionale e nel differenziamento cellulare</b>	177
Apoptosi	177
Autofagia	179
 <b>Concetti chiave</b>	182
Lecture consigliate	182

<b>9 RIPRODUZIONE E FECONDAZIONE: MECCANISMI E STRATEGIE</b>	183
 <i>Il periodo riproduttivo femminile: il ciclo estrale</i>	184
<b>Comportamenti riproduttivi nei vertebrati</b>	184
Pesci	185
Anfibi	185
Rettili	186
Uccelli	186
Mammiferi	186
<b>Il sesso è davvero necessario?</b>	186
Partenogenesi	187
Partenogenesi accidentale, facoltativa e obbligata	188
Vantaggi e svantaggi della partenogenesi	189
<b>Competizione spermatica</b>	189
Meccanismi	190

<b>Determinazione del sesso nei vertebrati</b>	191
 <b>Concetti chiave</b>	193
Lecture consigliate	193

<b>10 CELLULE STAMINALI: CARATTERISTICHE E POTENZIALITÀ TERAPEUTICHE</b>	195
<b>Cellule staminali</b>	195
Divisione asimmetrica e divisione simmetrica	195
Classificazione	196
Concetto di nicchia	197
<b>Cellule staminali adulte</b>	198
Proprietà	198
Isolamento, purificazione e caratterizzazione	198
Cellule staminali emopoietiche	199
Proprietà	200
Ruolo fisiologico	201
Isolamento e caratterizzazione	202
Espansione <i>in vitro</i>	202
Applicazioni terapeutiche	203
<b>Cellule staminali mesenchimali</b>	203
Proprietà	204
Ruolo fisiologico	204
Isolamento e caratterizzazione	204
Espansione <i>in vitro</i>	205
Applicazioni terapeutiche	206
 <i>Ruolo della senescenza nell'alterazione della biologia delle cellule staminali</i>	206
<b>Cellule staminali fetali</b>	206
Proprietà	206
<b>Cellule staminali mesenchimali</b>	
da liquido amniotico	208
Caratterizzazione	208
Isolamento	208
Espansione <i>in vitro</i>	209
Applicazioni terapeutiche	209
<b>Cellule staminali embrionali</b>	209
Proprietà	209
Isolamento	210
Caratterizzazione	210
Espansione <i>in vitro</i>	211
Applicazioni terapeutiche	211
<b>Altre forme di pluripotenza</b>	211
<b>Cellule embrionali germinali</b>	211
Isolamento, espansione <i>in vitro</i> e caratterizzazione	212
Applicazioni terapeutiche	212
<b>Cellule staminali pluripotenti</b>	
derivate dalle cellule germinali	212
Caratterizzazione	213
Isolamento ed espansione <i>in vitro</i>	213
Applicazioni terapeutiche	213

Cellule staminali pluripotenti indotte. ....	213	Esempi di clonazione animale o riproduttiva . . . .	219
Tecnica di riprogrammazione . . . . .	214	Clonazione terapeutica . . . . .	221
Applicazioni terapeutiche: potenzialità . . . . .	215	Criticità . . . . .	221
Applicazioni terapeutiche: controversie . . . . .	215	<b>Appendice 1 - Dalla ricerca alla pratica clinica:</b>	
Fusione cellulare: cellula somatica-		<b>i <i>clinical trial</i>.</b> . . . . .	223
cellula staminale embrionale . . . . .	215	<b>Appendice 2 - Potenzialità terapeutiche</b>	
Tecniche di fusione cellulare . . . . .	216	<b>delle cellule staminali</b> . . . . .	225
Applicazioni terapeutiche: criticità . . . . .	216	Cellule staminali embrionali:	
Cellule staminali ottenute		il problema etico . . . . .	225
per trasferimento nucleare . . . . .	217	Applicazioni terapeutiche	
Applicazioni terapeutiche. . . . .	218	delle cellule staminali mesenchimali . . . . .	226
<b>Clonazione</b> . . . . .	218	 <b>Concetti chiave</b> . . . . .	231
Tecniche di clonazione . . . . .	218	Lecture consigliate . . . . .	231

## Seconda sezione INFERTILITÀ UMANA

<b>11</b>	<b>INFERTILITÀ UMANA:</b>		
	<b>CAUSE, DIAGNOSI E TERAPIA</b> . . . . .		
	<b>Infertilità di coppia</b> . . . . .		
	<b>Infertilità femminile</b> . . . . .		
	Fattori femminili di infertilità . . . . .		
	Fattore età . . . . .		236
	Fattore endocrino . . . . .		236
	Fattore tubarico . . . . .		237
	Fattore uterino . . . . .		237
	Fattore cervicale . . . . .		237
	Fattore vaginale . . . . .		237
	Fattore pelvico . . . . .		237
	Fattori ambientali . . . . .		238
	Fattori genetici . . . . .		238
	Diagnosi . . . . .		238
	Anamnesi ed esame obiettivo . . . . .		238
	Diagnosi del fattore endocrino . . . . .		239
	Diagnosi del fattore tubarico . . . . .		239
	<i>Isterosalpingografia</i> . . . . .		239
	<i>Sonoisterosalpingografia</i> . . . . .		240
	<i>Laparoscopia diagnostica</i>		
	<i>con cromatosalpingoscopia</i> . . . . .		240
	Diagnosi del fattore uterino . . . . .		240
	Diagnosi del fattore cervicale . . . . .		241
	Terapia . . . . .		241
	<b>Infertilità maschile</b> . . . . .		241
	Fattori maschili di infertilità . . . . .		241
	Cause pretesticolari . . . . .		242
	 <i>Fattori ambientali,</i>		
	<i>stile di vita e infertilità maschile</i> . . . . .		242
	Cause testicolari . . . . .		244
	<i>Sindrome di Klinefelter</i> . . . . .		244
	<i>Microdelezioni del cromosoma Yq</i> . . . . .		244
	<i>Varicocele</i> . . . . .		244
	<i>Criptorchidismo</i> . . . . .		245
	<i>Orchiti</i> . . . . .		246
	<i>Torsione testicolare</i> . . . . .		246
	<i>Esposizione a sostanze tossiche</i> . . . . .		246
	Cause post testicolari . . . . .		247
	<i>Sindrome di Kartagener</i> . . . . .		247
	<i>Agenesia mono- o bilaterale</i>		
	<i>dei dotti deferenti</i> . . . . .		247
	<i>Vasectomia e traumi</i> . . . . .		247
	<i>Infezioni a carico</i>		
	<i>delle ghiandole sessuali accessorie</i> . . . . .		247
	<i>Anomalie dell'eiaculazione</i> . . . . .		247
	<i>Disfunzione erettile</i> . . . . .		247
	<i>Alterazioni</i>		
	<i>dell'orifizio uretrale esterno</i> . . . . .		248
	Diagnosi . . . . .		248
	Anamnesi . . . . .		248
	Esame obiettivo . . . . .		248
	Indagini di laboratorio . . . . .		248
	 <i>Come interpretare il risultato</i>		
	<i>dell'esame del liquido seminale</i> . . . . .		249
	Indagini strumentali . . . . .		250
	Terapia . . . . .		251
	Terapia medica . . . . .		251
	 <i>Azoospermie, recupero</i>		
	<i>dei gameti maschili</i>		
	<i>e procreazione medicalmente assistita</i> . . . . .		252
	Terapia chirurgica . . . . .		253
	<i>Orchidopessi</i> . . . . .		253
	<i>Varicolectomia</i> . . . . .		253
	 <b>Concetti chiave</b> . . . . .		254
	Lecture consigliate . . . . .		254

<b>12</b>	<b>ESAME DEL LIQUIDO SEMINALE</b> .....	255			
	<b>Importanza dello spermogramma</b>				
	<b>e suo significato clinico</b> .....	256			
	<b>Composizione del liquido seminale</b> .....	256			
	 <i>Vescicole seminali</i> .....	258			
	<b>Esecuzione dello spermogramma</b> .....	258			
	Fase preanalitica.....	258			
	Astinenza .....	259			
	Raccolta del liquido seminale .....	259			
	Consegna del liquido seminale .....	259			
	Raccolta del liquido seminale				
	con intervento medico.....	259			
	Fase analitica .....	260			
	Parametri macroscopici .....	260			
	<i>Coagulo alla raccolta</i> .....	260			
	<i>Tempo e qualità della fluidificazione</i> .....	260			
	<i>Aspetto</i> .....	260			
	<i>Colore</i> .....	260			
	<i>Volume</i> .....	261			
	<i>Viscosità</i> .....	261			
	<i>Determinazione del pH alla fluidificazione</i> ..	261			
	<i>Odore</i> .....	261			
	<i>Coaguli post fluidificazione</i> .....	262			
	Parametri microscopici .....	262			
	<i>Motilità nemaspermica</i> .....	262			
	 <i>Valutazione computerizzata</i>				
	<i>della motilità nemaspermica</i> .....	263			
	<i>Vitalità nemaspermica</i> .....	263			
	<i>Concentrazione nemaspermica</i> .....	264			
	<i>Morfologia nemaspermica</i> .....	265			
	<i>Agglutinazione</i> .....	266			
	<i>Valutazione del materiale</i>				
	<i>non nemaspermico</i> .....	266			
	 <i>Infertilità immunologica</i> .....	267			
	Altri esami .....	268			
	<i>Indagini proteomica e metabolomica</i> .....	269			
	<i>Ricerca di marcatori biochimici</i>				
	<i>per la funzionalità delle ghiandole</i>				
	<i>annesse al sistema genitale maschile</i> .....	269			
	<i>Valutazione della reazione acrosomiale</i> ....	269			
	<i>Dosaggio delle specie reattive dell'ossigeno</i> ..	269			
	<i>Indice dell'attività mitocondriale</i> .....	270			
	<b>Alterazioni del liquido seminale</b> .....	270			
	Alterazioni della motilità				
	e della vitalità nemaspermica.....	270			
	Alterazioni della concentrazione nemaspermica .	271			
	Alterazioni della morfologia nemaspermica .....	272			
	Anomalie morfologiche singole e multiple ....	272			
	Anomalie morfologiche su base genetica.....	273			
	Alterazioni del volume del liquido seminale .....	274			
	<b>Appendice - Dispositivi per la determinazione</b>				
	<b>della concentrazione di spermatozoi</b> .....	276			
	Camera di Neubauer migliorata.....	276			
	Camera di Makler .....	276			
	Conteggio di cellule mediante vetrini.....	276			
	Accettabilità dei valori				
	della conta degli spermatozoi.....	277			
	 <b>Concetti chiave</b> .....	278			
	Lecture consigliate .....	278			
<b>13</b>	<b>INFEZIONI UROGENITALI</b>				
	<b>E INFERTILITÀ</b> .....	279			
	<b>Infezioni del sistema genitale maschile</b> .....	280			
	Infezioni correlate a infertilità .....	280			
	Orchiti .....	280			
	Epididimiti .....	280			
	Prostatiti .....	280			
	Vescicoliti .....	281			
	Uretriti .....	281			
	 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	282			
	Caratteristiche identificative				
	dei principali microrganismi .....	282			
	Micoplasmi .....	282			
	 <i>Micoplasma/ureaplasma</i> .....	283			
	<i>Enterococcus species</i> .....	283			
	Enterobatteri .....	283			
	<i>Escherichia coli</i> .....	283			
	 <i>Enterococcus species</i> .....	284			
	<i>Proteus mirabilis e vulgaris</i> .....	284			
	<i>Klebsiella species</i> .....	285			
	<b>Infezioni del sistema genitale femminile</b> .....	286			
	Infezioni correlate a infertilità.....	286			
	Caratteristiche identificative				
	dei principali microrganismi .....	286			
	<i>Treponema pallidum</i> .....	287			
	 <i>Treponema pallidum</i> .....	287			
	Micoplasmi .....	288			
	<i>Chlamydia trachomatis</i> .....	288			
	<b>Prelievi microbiologici</b>				
	<b>nelle vie urogenitali maschili</b> .....	288			
	Tampone uretrale .....	288			
	 <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	289			
	Conservazione dei campioni .....	289			
	Procedure diagnostiche.....	289			
	Refertazione .....	290			
	Esame della secrezione prostatica .....	290			
	Procedure diagnostiche.....	290			
	Refertazione .....	291			
	Esame del liquido seminale .....	291			
	Conservazione dei campioni .....	291			
	Procedure diagnostiche.....	291			
	Refertazione .....	291			
	Lavaggio o tampone				
	da solco balanoprepuziale.....	291			
	Conservazione dei campioni .....	291			
	Procedure diagnostiche.....	291			
	Refertazione .....	291			

<b>Prelievi microbiologici</b>	
<b>nelle vie urogenitali femminili</b>	291
Tampone vaginale	291
Conservazione dei campioni	292
Procedure diagnostiche	292
 <i>Gardnerella vaginalis</i>	293
 <i>Candida albicans</i>	293
 <i>Streptococcus pyogenes</i>	294
 <i>Streptococcus agalactiae</i>	295
 <i>Listeria monocytogenes</i>	295
Tampone endocervicale	296
Conservazione dei campioni	296
Procedure diagnostiche	296
Tampone uretrale	296
Conservazione dei campioni	297
Procedure diagnostiche	297
Tampone vulvare	297
 <i>Haemophilus Ducreyi</i>	297
Conservazione dei campioni	297
Procedure diagnostiche	297
Refertazione	297
Urinocoltura	298
Conservazione dei campioni	298
Procedure diagnostiche	298
Significatività della carica microbica urinaria	299
Refertazione	301
 <b>Concetti chiave</b>	302
Lecture consigliate	302

<b>14 FATTORI GENETICI DELL'INFERTILITÀ</b>	303
<b>Fattori genetici dell'infertilità maschile</b>	303
Anomalie del cariotipo	303
Anomalie numeriche dei cromosomi	303
<i>Sindrome di Klinefelter</i>	303
<i>Sindrome del maschio XX</i>	305
<i>Sindrome 47,XYY</i>	305
<i>Aneuploidie degli autosomi</i>	305
Anomalie strutturali dei cromosomi	305
<i>Anomalie strutturali del cromosoma Y</i>	305
<i>Anomalie strutturali degli autosomi</i>	305
Microdelezioni del braccio lungo	
del cromosoma Y	306
Delezioni complete della regione AZF	306
Delezioni parziali della regione AZFc	306
 <i>Il significato clinico delle delezioni delle regioni AZF</i>	307
<i>Delezione gr/gr</i>	308
Anomalie monogeniche legate al cromosoma X	308
Gene <i>AR</i>	309
Gene <i>TEX11</i>	309
Mutazioni del gene <i>CFTR</i>	309
Ricerca di cause genetiche nell'infertilità idiopatica	310

<b>Fattori genetici dell'infertilità femminile</b>	311
Insufficienza ovarica precoce	311
Anomalie cromosomiche	312
<i>Sindrome di Turner</i>	312
<i>Trisomia X</i>	312
<i>Anomalie strutturali</i>	312
Anomalie monogeniche legate al cromosoma X	312
Gene <i>FMR1</i>	313
Gene <i>BMP15</i>	314
Altri geni	314
Anomalie monogeniche autosomiche	314
Iter diagnostico	314
Endometriosi	316
Sindrome dell'ovaio policistico	316
Iter diagnostico	
nella ricerca di possibili cause genetiche	316
<b>Ipogonadismo ipogonadotropo congenito</b>	317
 <b>Concetti chiave</b>	319
Lecture consigliate	320

<b>15 TECNICHE PER LO SCREENING GENETICO DELL'INFERTILITÀ</b>	321
<b>Tecniche di citogenetica convenzionale</b>	321
Analisi del cariotipo	322
Bandeggio cromosomico	322
<b>Tecniche di citogenetica molecolare</b>	325
 <i>Cromosomi marcatori soprannumerari</i>	325
<b>Tecniche di biologia molecolare</b>	326
Reazione a catena della polimerasi	326
PCR in tempo reale	327
Analisi di marcatori microsatelliti polimorfici	328
Amplificazione ligazione-dipendente multipla della sonda	329
Tecnica MS-MLPA	329
Sequenziamento Sanger e di nuova generazione	329
 <i>Geni imprinted</i>	330
Utilizzo dei <i>microarray</i>	332
Array-CGH di oligonucleotidi	333
Array di polimorfismi a singolo nucleotide	333
<b>Appendice - Le tecniche FISH, M-FISH, SKY ed mBAND</b>	336
Ibridazione <i>in situ</i> fluorescente	336
Ibridazione <i>in situ</i> fluorescente multicolore	338
Tecnica mBAND	339
 <b>Concetti chiave</b>	341
Lecture consigliate	342

<b>16 QUALITÀ DEL DNA SPERMATICO E INFERTILITÀ</b>	343
Struttura della cromatina spermatica umana	343
Analisi della qualità del DNA spermatico	344

Frammentazione del DNA spermatico .....	345
 <i>Valutazione delle anomalie cromosomiche spermatiche</i> .....	348
<b>Anomalie cromosomiche degli spermatozoi e infertilità</b> .....	349
<b>Appendice - Test di laboratorio per l'analisi della qualità del DNA spermatico</b> .....	350
Colorazione con blu di anilina .....	350
Colorazione con blu di toluidina .....	350
Colorazione con cromomicina A3 .....	351
COMET assay .....	351
Saggio della diffusione .....	352
Saggio SCSA .....	353
Tecnica TUNEL .....	353
Acridine Orange Test .....	354
SCD Test .....	355
 <b>Concetti chiave</b> .....	356
Lecture consigliate .....	356

<b>17 BASI BIOCHIMICHE DELLA FERTILITÀ</b> .....	357
 <i>Fluidità di membrana degli spermatozoi: un parametro critico per la funzionalità spermatica</i> .....	358
 <i>Citochine e gravidanza</i> .....	359
<b>Marcatori molecolari in uso nella pratica clinica</b> ..	359
Biomarcatori della fertilità femminile .....	359
Biomarcatori della fertilità maschile .....	360

<b>Nuovi lipidi bioattivi come potenziali biomarcatori della fertilità umana</b> .....	361
Sistema endocannabinoide .....	361
Endocannabinoidi nei processi riproduttivi femminili e maschili .....	361
 <i>Gli endocannabinoidi nella modulazione dei processi riproduttivi: aspetti evolutivi</i> .....	363
Endocannabinoidi nelle matrici riproduttive femminili e maschili .....	364
Concentrazioni degli endocannabinoidi nel plasma materno .....	365
Concentrazioni degli endocannabinoidi nell'ovaio e nel liquido follicolare .....	365
Concentrazioni degli endocannabinoidi all'interfaccia materno-fetale .....	366
 <i>Metodologie per la rilevazione degli endocannabinoidi nelle matrici biologiche</i> .....	367
Concentrazioni degli endocannabinoidi nel plasma seminale e negli spermatozoi ...	368
Endocannabinoidi e altri fattori periferici coinvolti nella riproduzione .....	368
Rilevanza clinica degli endocannabinoidi nella fertilità maschile e femminile .....	369
<b>Appendice - Criteri di valutazione di un biomarcatore nella medicina clinica riproduttiva</b> .....	371
 <b>Concetti chiave</b> .....	373
Lecture consigliate .....	373

### Terza sezione TECNOLOGIE LEGATE ALLA RIPRODUZIONE UMANA

<b>18 CRIOCONSERVAZIONE DI GAMETI ED EMBRIONI</b> .....	377
 <i>Profilo storico della crioconservazione</i> ..	377
<b>Principi di criobiologia</b> .....	377
Proprietà fisiche delle cellule e dei tessuti a basse temperature .....	378
Potenziale chimico .....	379
Volume .....	379
Velocità del movimento dell'acqua .....	379
Stato di aggregazione .....	380
Modificazioni strutturali delle cellule a basse temperature .....	380
Tecniche di crioconservazione .....	380
Crioprotettori .....	381
<b>Crioconservazione nella fertilità maschile</b> .....	382
Crioconservazione del liquido seminale .....	382
Possibili danni .....	382

Protocolli sperimentali .....	384
Crioconservazione del tessuto testicolare .....	384
Protocolli sperimentali .....	385
<b>Crioconservazione nella fertilità femminile</b> .....	385
Crioconservazione degli oociti .....	385
Protocolli sperimentali: congelamento lento ...	386
Protocolli sperimentali: vitrificazione .....	386
Valutazione della qualità oocitaria .....	387
Crioconservazione di oociti immaturi .....	387
Crioconservazione del tessuto ovarico .....	388
Crioconservazione degli embrioni .....	388
Protocolli sperimentali .....	388
Valutazione della qualità dell'embrione .....	388
Crioconservazione della blastocisti .....	389
<b>Appendice - Dispositivi di vitrificazione</b> .....	390
 <b>Concetti chiave</b> .....	391
Lecture consigliate .....	391

<b>19</b>	<b>STIMOLAZIONE ORMONALE E INDUZIONE DELL'OVULAZIONE</b> .....	393
	<b>Farmaci induttori dell'ovulazione</b> .....	393
	Clomifene citrato .....	393
	Indicazioni .....	394
	Dosaggi e somministrazione .....	394
	Effetti collaterali e complicanze .....	394
	<b>Gonadotropine</b> .....	394
	Gonadotropine utilizzate nell'induzione dell'ovulazione.....	395
	Ormone follicolo-stimolante .....	396
	<i>Somministrazione e dosaggi</i> .....	396
	<b>Farmaci per la prevenzione della luteinizzazione precoce</b> .....	396
	Analoghi agonisti dell'ormone di liberazione delle gonadotropine .....	396
	Analoghi antagonisti dell'ormone di liberazione delle gonadotropine .....	397
	<b>Farmaci per la supplementazione della fase luteinica</b> .....	398
	<b>Personalizzazione delle terapie</b> .....	398
	Valutazione della riserva ovarica.....	398
	Dosaggio plasmatico dell'ormone follicolo-stimolante entro il terzo giorno del ciclo ovarico.....	398
	Dosaggio plasmatico dell'ormone antimülleriano .....	399
	Conta dei follicoli antrali .....	399
	Classificazione delle pazienti in base alla valutazione della riserva ovarica.....	399
	Gestione delle pazienti <i>poor-responder</i> .....	400
	Strategie per la prevenzione della sindrome da iperstimolazione ovarica ...	401
	 <b>Concetti chiave</b> .....	402
	Lectture consigliate .....	402
<b>20</b>	<b>TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA</b> .....	403
	<b>Tecniche di PMA</b> .....	403
	Tecniche di primo livello.....	403
	 <i>Procreazione medicalmente assistita:     dimensioni del fenomeno</i> .....	404
	Tecniche di secondo livello.....	405
	Tecniche di terzo livello.....	405
	Indicazioni .....	405
	<b>Inseminazione intrauterina</b> .....	405
	Procedure.....	406
	Indicazioni e controindicazioni.....	406
	Risultati .....	407
	<b>Fecondazione <i>in vitro</i></b> .....	407
	Fecondazione <i>in vitro</i> e trasferimento di embrioni .....	407
	 <b>FIVET:</b> <i>i padri della fecondazione in vitro</i> .....	407
	Procedure .....	407
	<i>Stimolazione ovarica e pick-up</i> .....	408
	 <i>Prelievo oocitario</i> .....	408
	<i>Inseminazione e coltura</i> .....	409
	Indicazioni .....	409
	Risultati.....	410
	 <i>Risultati delle tecniche       di secondo e terzo livello</i> .....	410
	Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo .....	410
	Procedure .....	410
	<i>Stimolazione ovarica e pick-up</i> .....	410
	<i>Decumulazione e inseminazione</i> .....	410
	Indicazioni .....	411
	<b>Trasferimento intrauterino</b> .....	411
	 <i>Gravidanze gemellari</i> .....	411
	 <i>Analisi dei fattori derivati   dall'embrione come marcatori   di potenziale di sviluppo</i> .....	412
	Controllo della fecondazione <i>in vitro</i> e selezione dell'embrione.....	412
	Check zigotico.....	413
	<i>Estrusione del secondo globulo polare     e formazione dei pronuclei</i> .....	414
	<i>Aspetto morfologico degli zigoti</i> .....	414
	<i>Punteggio pronucleare</i> .....	415
	<i>Fecondazioni anomale</i> .....	416
	Embrione in fase di segmentazione .....	417
	<i>Citoplasma e anomalie citoplasmatiche</i> .....	418
	<i>Numero dei blastomeri</i> .....	419
	<i>Dimensione e disposizione spaziale     dei blastomeri</i> .....	419
	<i>Grado di frammentazione</i> .....	419
	<i>Multinucleazione</i> .....	420
	<i>Compattazione della morula</i> .....	420
	<i>Valutazione embrionale</i> .....	420
	Blastocisti .....	421
	<i>Grado di espansione della blastocisti</i> .....	421
	<i>Morfologia della massa cellulare interna</i> ...	421
	<i>Morfologia del trofoblasto</i> .....	421
	<i>Degenerazione delle cellule della blastocisti</i> .	421
	<i>Proiezioni citoplasmatiche     tra massa cellulare interna e trofoblasto</i> ..	422
	<i>Altre caratteristiche morfologiche</i> .....	422
	<b>Appendice 1 - Tecniche di capacitazione del liquido seminale</b> .....	423
	Tecnica di diluizione e lavaggio.....	424
	Tecniche di migrazione: <i>swim-up</i> da strato fisico.....	424
	Tecniche di migrazione: <i>swim-up</i> da pellet .....	424
	Gradiente di densità con centrifugazione.....	425
	Filtrazione con lana di vetro e biglie di vetro ...	425

Separazione con metodo elettroforetico	
in base alla carica elettrica	426
Tecniche di <i>binding</i> : acido ialuronico	426
Tecniche di <i>binding</i> :	
<i>Magnetic-Activated Cell Sorting</i>	426
Altre tecniche	426
<b>Appendice 2 - Laboratorio di PMA:</b>	
<b>organizzazione e gestione</b>	427
Sistema documentato	
della gestione della qualità	427
Risorse strumentali	428
Requisiti strutturali e norme comportamentali	430
Requisiti ambientali	431
Crioconservazione:	
gestione e stoccaggio in azoto liquido	432
 <b>Concetti chiave</b>	435
Lecture consigliate	436

<b>21</b>	<b>COLTURA DEGLI EMBRIONI</b>	437
	<b>Tecniche e condizioni di coltura</b>	437
	Tempi di coltura dell'embrione	438
	Coltura fino allo stadio	
	di quattro-otto cellule	438
	Coltura prolungata	438
	<i>Coltura singola: "Let the embryo choose"</i>	438
	<i>Coltura sequenziale: "Back to nature"</i>	439
	Cocoltura	439
	Coltura embrionale	
	con bassa tensione di ossigeno	439
	Coltura individuale o di gruppo	439
	<b>Terreni di coltura</b>	440
	Componenti	440
	Acqua	440
	Sali	440
	Glucidi	440
	<i>Sodio piruvato</i>	440
	<i>Sodio lattato</i>	440
	<i>Glucosio</i>	440
	Proteine	440
	<i>Albumina</i>	440
	<i>Aminoacidi</i>	440
	Acido etilendiaminotetracetico	441
	<i>Buffer</i>	441
	<i>Ione bicarbonato</i>	441
	<i>HEPES</i>	441
	Antibiotici	441
	Ialuronato (glucosaminoglicano)	441
	<b>Strumentazione per la coltura embrionale</b>	441
	<b>Supporti per la coltura embrionale</b>	442
	Supporti per la coltura statica	442
	Macrocoltura	443
	Microcoltura	443
	Ultramicrocoltura	444

Supporti per la coltura dinamica	444
<b>Condizioni generali di coltura</b>	445
Olio leggero di paraffina	445
Sistemi tampone dei terreni di coltura	445
<b>Osservazione e selezione morfologica</b>	
<b>degli embrioni</b>	446
Tecnologia <i>timelapse</i>	446
Limiti della tecnologia <i>timelapse</i>	447
<b>Appendice - Terreni di coltura</b>	448
Terreni di coltura semplici	448
Terreni di coltura complessi	448
Terreni per coltura sequenziale	448
Terreni per coltura singola	448
 <b>Concetti chiave</b>	449
Lecture consigliate	450

<b>22</b>	<b>MATURAZIONE IN VITRO</b>	
	<b>DEGLI OOCITI</b>	451
	<b>Applicazione clinica della maturazione</b>	
	<i>in vitro</i>	452
	<b>Efficienza della procedura</b>	
	<b>di maturazione <i>in vitro</i></b>	453
	Criteri di selezione	453
	Età	453
	Peso corporeo	453
	Conta dei follicoli antrali	453
	Concentrazione	
	dell'ormone follicolo-stimolante	454
	Concentrazione dell'ormone antimülleriano	454
	Concentrazione del 17 $\beta$ -estradiolo	454
	<i>Priming</i> farmacologico	454
	Temporizzazione del prelievo degli oociti	455
	Preparazione endometriale	457
	<b>Aspetti biologici e di laboratorio</b>	
	<b>della maturazione <i>in vitro</i></b>	457
	Terreni di coltura	457
	Tempi della procedura	458
	Miglioramento dell'efficienza	
	della maturazione <i>in vitro</i>	458
	<b>Bambini nati da maturazione <i>in vitro</i></b>	459
	 <b>Concetti chiave</b>	460
	Lecture consigliate	460

<b>23</b>	<b>MICROMANIPOLAZIONE</b>	
	<b>DI GAMETI ED EMBRIONI</b>	461
	<b>Evoluzione delle tecniche</b>	461
	<b>Iniezione intracitoplasmatica</b>	
	<b>dello spermatozoo</b>	462
	Indicazioni	462
	<i>Set up</i> di laboratorio	463
	Preparazione dei campioni seminali	463
	Raccolta del liquido seminale	463

Analisi e preparazione del liquido seminale per la selezione dello spermatozoo . . . . .	465	 <b>Concetti chiave</b> . . . . .	479
Preparazione di spermatozoi testicolari ed epididimali. . . . .	465	Lettere consigliate . . . . .	480
Preparazione degli oociti . . . . .	465		
Procedura . . . . .	466	<b>24 DIAGNOSI GENETICA PREIMPIANTO</b> .	481
Selezione e immobilizzazione dello spermatozoo . . . . .	467	<b>Indicazioni</b> . . . . .	481
Posizionamento dell'ocito e penetrazione nel citoplasma dell'ocito . . . . .	467	<b>Percorso della coppia</b> . . . . .	482
<b>Selezione dello spermatozoo per la ICSI</b> . . . . .	468	<b>Diagnosi genetica preimpianto e tecniche di fecondazione assistita</b> . . . . .	482
Iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi morfologicamente selezionati . . . . .	468	 <i>La consulenza genetica nel processo di diagnosi preimpianto</i> . . . . .	483
Procedura . . . . .	469	Coltura e biopsia embrionale . . . . .	483
Risultati e indicazioni . . . . .	469	Biopsia dei blastomeri. . . . .	483
Iniezione intracitoplasmatica fisiologica dello spermatozoo . . . . .	470	 <i>Incidenza e possibilità diagnostiche del mosaicismo nelle prime fasi di sviluppo dell'embrione</i> . . . . .	485
Procedura . . . . .	470	Biopsia allo stadio di blastocisti . . . . .	486
Risultati e indicazioni . . . . .	471	<i>Tecniche e timing di biopsia</i> . . . . .	486
Selezione degli spermatozoi su base magnetica. . . . .	471	<b>Diagnosi genetica preimpianto</b> . . . . .	487
Procedura . . . . .	471	Aneuploidie cromosomiche (PGT-A) . . . . .	487
Risultati e indicazioni . . . . .	471	Malattie monogeniche (PGT-M) . . . . .	488
<b>Selezione degli oociti per la ICSI</b> . . . . .	472	Riarrangiamenti cromosomici e variazioni del numero di copie patologiche (PGT-SR). . . . .	488
Parametri morfologici . . . . .	472	<b>Tecniche di diagnosi genetica preimpianto</b> . . . . .	489
Classificazione in base allo stadio di maturazione. . . . .	473	Tecniche di analisi cromosomica estensiva . . . . .	490
Apoptosi in cellule del cumulo ooforo . . . . .	474	Sequenziamento di nuova generazione. . . . .	490
<b>Tecniche di micromanipolazione su embrioni</b> . . . . .	475	<b>Diagnosi genetica preimpianto: prospettive</b> . . . . .	491
Schiusa assistita . . . . .	475	 <b>Concetti chiave</b> . . . . .	492
Diagnosi genetica preimpianto. . . . .	477	Lettere consigliate . . . . .	492
Procedure . . . . .	477		
Vantaggi e svantaggi . . . . .	478	<b>INDICE ANALITICO</b> . . . . .	493



**Prima sezione**

**BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE  
DELLA RIPRODUZIONE**



# ANATOMIA DEL SISTEMA GENITALE

# 1

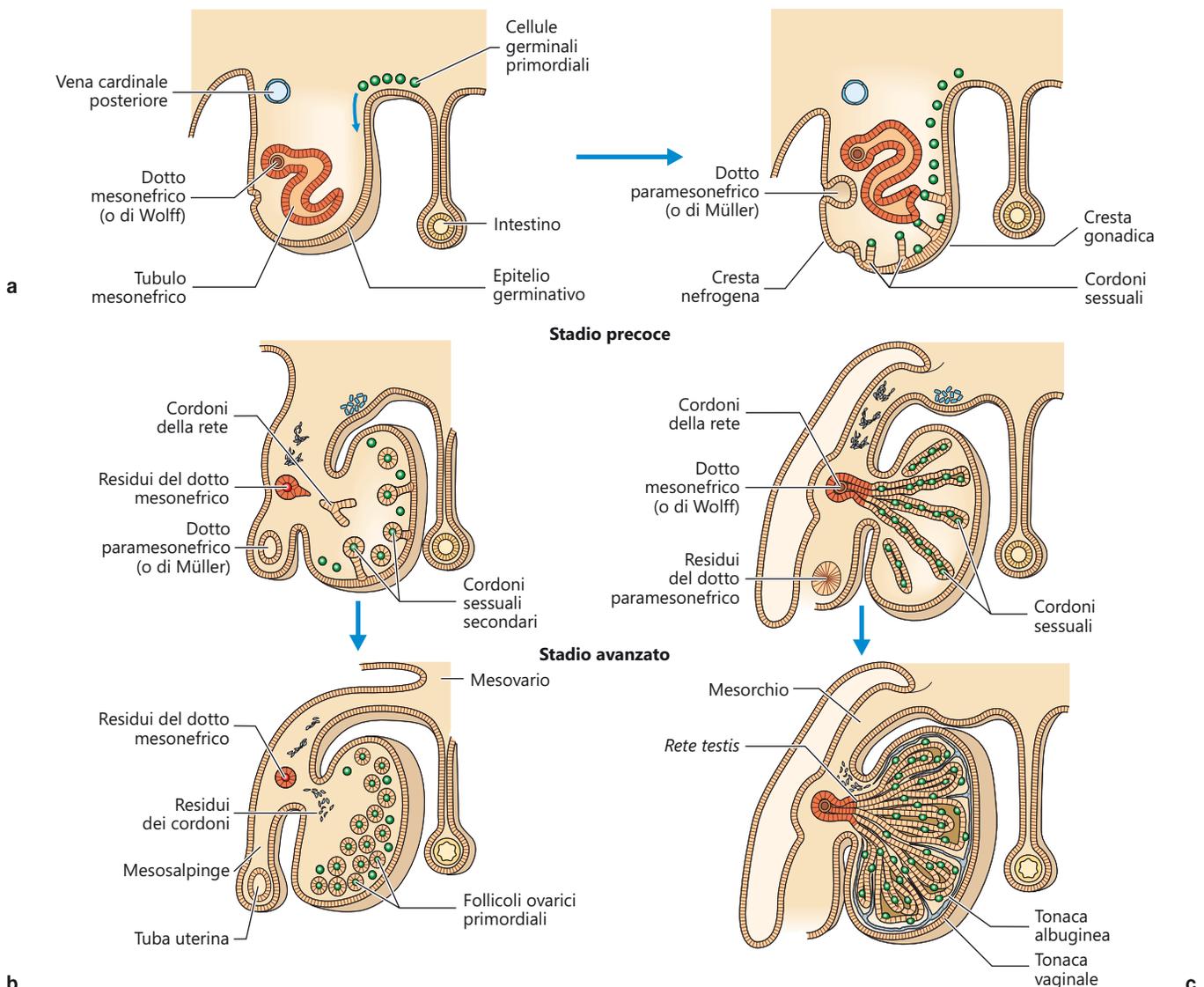
## ABBOZZI DELLE GONADI

L'evoluzione delle gonadi inizia con una fase indifferenziata più o meno lunga durante la quale gli abbozzi delle gonadi sono assolutamente identici nei due sessi; il differenziamento in ovaie o testicoli compare in un secondo tempo (Fig. 1.1).

Nello stadio indifferenziato, l'abbozzo delle gonadi si forma a carico di due fasce dorsali dell'epitelio celomatico, le

**creste gonadiche** (o *genitali*), che si prolungano per tutta la lunghezza della cavità celomatica, ai due lati dell'origine del mesentere dorsale.

L'epitelio delle creste gonadiche è rapidamente colonizzato dalle **cellule germinali primordiali**, al termine della loro migrazione dai territori endodermici extragonadici dai quali si sono originate. Questa colonizzazione è raramente totale; nella maggior parte dei casi interessa soltanto una parte delle creste gonadiche, in corrispondenza delle future gonadi



**Figura 1.1 Sviluppo delle gonadi.** a, Sviluppo della gonade indifferenziata. b-c, Sviluppo precoce e avanzato delle gonadi femminile (b) e maschile (c).

fertili; la parte rimanente, sterile, scompare o, eccezionalmente, persiste come organo linfoide.

Dopo un periodo di riposo più o meno lungo, l'epitelio delle creste gonadiche colonizzato dalle cellule germinali primordiali (chiamato spesso **epitelio germinativo**) si ispessisce e sporge nella cavità celomatica, formando così uno dei due costituenti della gonade, la **zona corticale**, a potenzialità ovarica. Il secondo costituente, la **zona midollare**, a potenzialità testicolare, penetra nel peduncolo della cresta gonadica, futuro meso della gonade, e viene quasi a contatto della zona corticale, da cui resta separato soltanto da un sottile strato di mesenchima.

La **gonade indifferenziata** è quindi costituita da una zona corticale periferica, in cui sono localizzate le cellule germinali primordiali, uno stroma di origine mesenchimatica, in cui sono contenuti i vasi sanguigni, e una zona midollare centrale, sterile (cfr. **Fig. 1.1 a**). È definita "indifferenziata" poiché può evolversi indifferentemente in ovaio o in testicolo secondo la predominanza di uno o dell'altro dei due territori, corticale o midollare.

## DIFFERENZIAMENTO OVARICO

Nel caso di differenziamento ovarico, la zona corticale si ispessisce per la rapida moltiplicazione delle cellule germi-

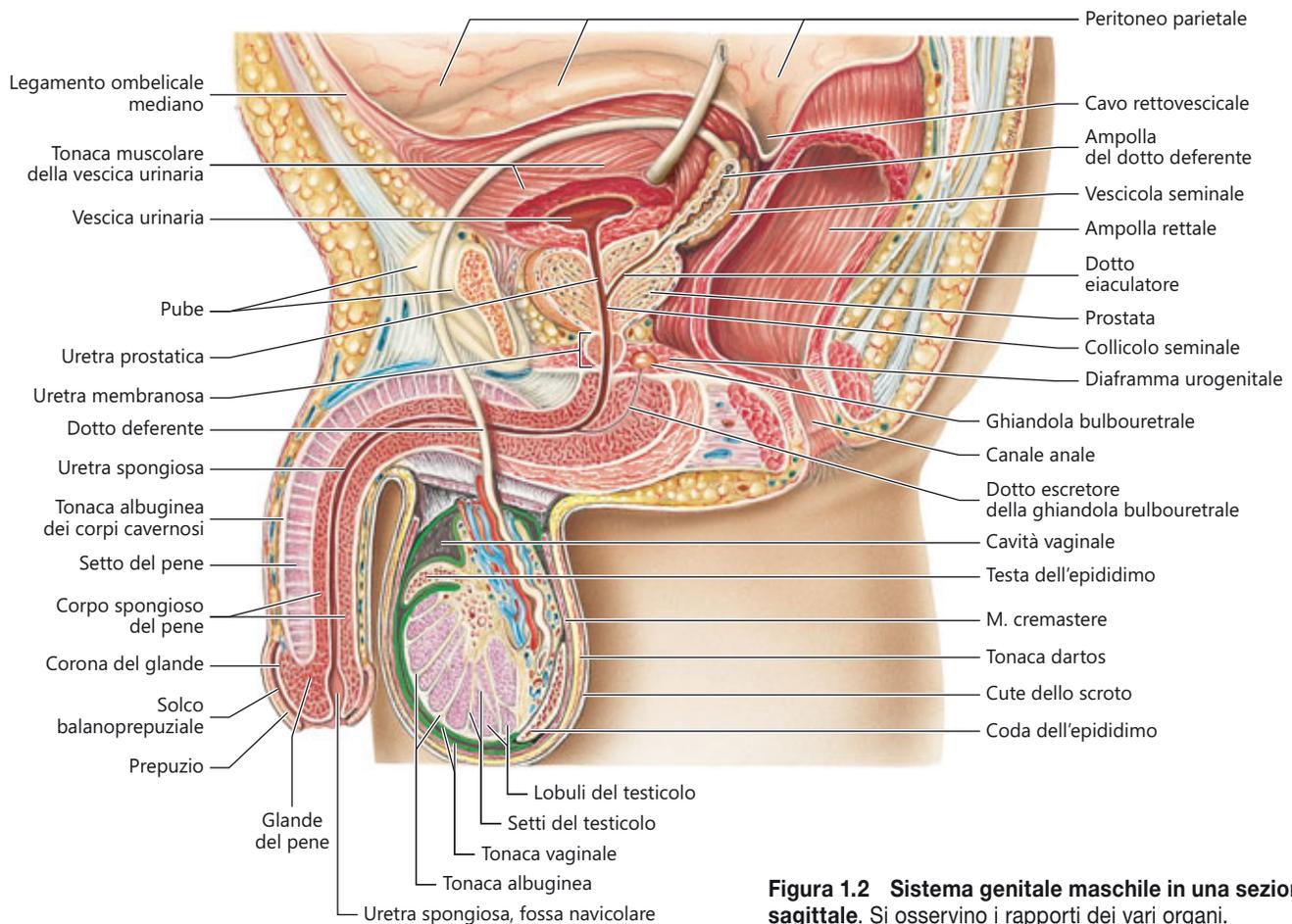
nali, diventate **oogoni primari**. Alcuni di essi, gli **oociti primari**, entrano anche in premeiosi. La zona midollare resta poco sviluppata e sterile; essa si scava in sacchi ovarici o si dispone in teche intorno ai follicoli (cfr. **Fig. 1.1 b**).

## DIFFERENZIAMENTO TESTICOLARE

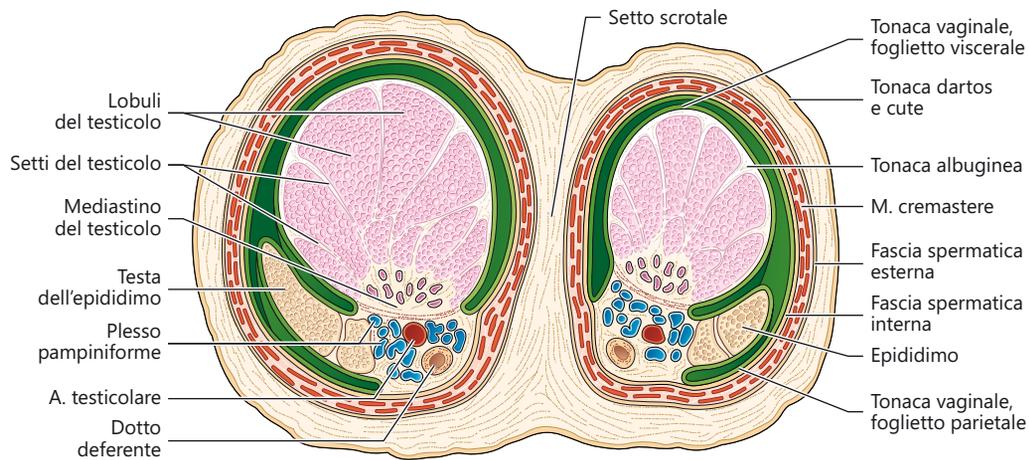
Nel caso di differenziamento testicolare, la zona midollare prolifera e attira le cellule germinali dalla zona corticale, che diventa sterile e si riduce a un sottile epitelio peritoneale che ricopre direttamente il mesenchima, ispessitosi nella tonaca albuginea, e che contiene la maggior parte dei vasi sanguigni della gonade. Le cellule germinali attratte dalla zona midollare diventano gli **spermatogoni primari**, che si moltiplicano lentamente e non manifestano segni di premeiosi.

## SISTEMA GENITALE MASCHILE

Il **sistema genitale maschile** (**Fig. 1.2**) è deputato alla formazione degli spermatozoi e alla emissione del liquido seminale, o sperma, liquido nel quale gli spermatozoi sono sospesi.

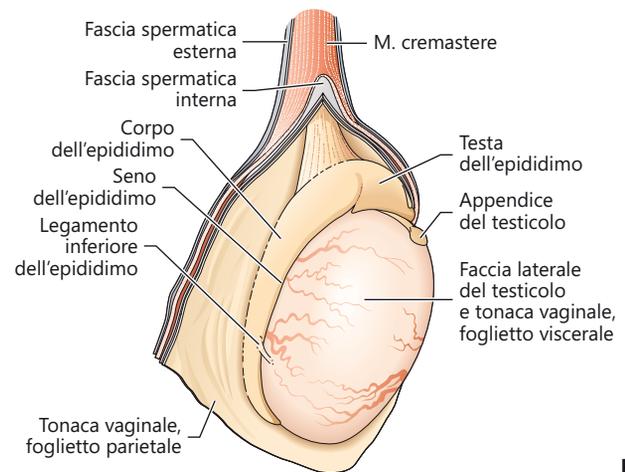


**Figura 1.2** Sistema genitale maschile in una sezione sagittale. Si osservino i rapporti dei vari organi.



a

**Figura 1.3 Testicolo: morfologia.** a, Sezione trasversale del sacco scrotale e del suo contenuto. Si apprezzano la struttura lobulare del testicolo e i rapporti della gonade con l'epididimo e il canale deferente. Sono anche indicate le varie tonache che costituiscono gli involucri del testicolo e la parete del sacco scrotale. b, Testicolo destro visto in proiezione laterale.



b

Nella specie umana il sistema genitale maschile consta di:

- due **testicoli**, che sono le gonadi maschili;
- **vie spermatiche**, che fanno seguito a ciascun testicolo e che hanno il compito di elaborare una parte del liquido seminale;
- **funicolo spermatico**, che sostiene il testicolo e accoglie le vie spermatiche;
- **uretra maschile**, che reca, oltre all'urina, il liquido seminale all'esterno;
- **ghiandole annesse**, il cui secreto completa la composizione del liquido seminale;
- **pene**, che è l'organo della copula.

Nel contesto del sistema, sono elaborati **ormoni**, come il testosterone, che concorrono alla funzione riproduttiva e conferiscono i caratteri sessuali secondari maschili.

## TESTICOLI

I **testicoli** sono posti sotto il perineo, fra le due cosce, dietro al pene, accolti nello scroto (cfr. Fig. 1.2). I testicoli si collocano in tale posizione nello scroto solo poco prima della nascita, essendosi formati nella cavità addominale, dalla quale successivamente discendono.

Lo **scroto** (Fig. 1.3) è un sacco cutaneo muscolare, al cui interno ciascun testicolo è appeso mediante il **funicolo spermatico**; è fissato al fondo da un legamento fibroso, detto **legamento scrotale**. I due testicoli sono separati tra loro dal **setto scrotale**, un sepimento che divide la cavità in due metà simmetriche, destra e sinistra.

## Morfologia esterna e involucri

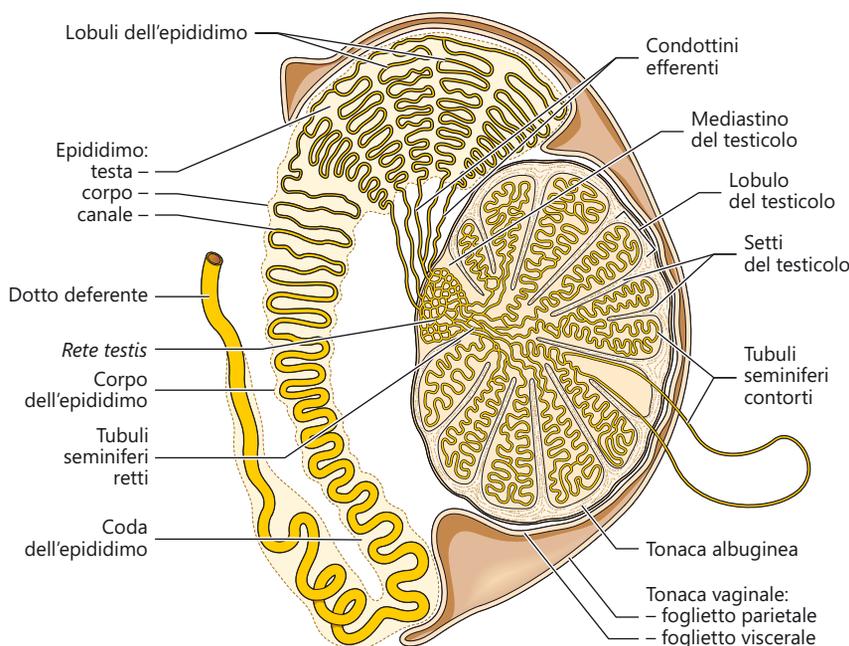
Il testicolo (cfr. Fig. 1.3) ha la forma di un ovoide, appiattito trasversalmente, dalle dimensioni medie di  $42 \times 25 \times 38$  mm; pesa circa 15-20 g e ha una consistenza duro-elastica.

Il polo superiore e il margine posteriore del testicolo sono sormontati dall'epididimo, formazione allungata che si adatta al testicolo e fa parte delle vie spermatiche. Lungo il margine posteriore del testicolo si trova l'**ilo del testicolo**, in corrispondenza del quale escono dal testicolo medesimo i condottini efferenti e passano i vasi e i nervi.

Il testicolo è avvolto dalla **tonaca albuginea**, spessa lamina fibrosa, di colore ceruleo, che circonda direttamente il parenchima dell'organo.

Esternamente alla tonaca albuginea, il testicolo è avvolto dal **foglietto viscerale della tonaca vaginale**: questa corrisponde alla porzione del peritoneo che ha accompagnato il testicolo nella sua discesa dalla cavità addominale nello scroto e che poi si è fatta indipendente dal peritoneo.

Infine, all'esterno del foglietto viscerale, il **foglietto parietale della tonaca vaginale** avvolge il testicolo e il funicolo spermatico.



**Figura 1.4** Testicolo e prime vie spermatiche: morfologia interna.

## Morfologia interna

Sezioni trasversali o longitudinali del testicolo (Fig. 1.4; cfr. Fig. 1.3 a) mostrano che la tonaca albuginea si ispessisce e si affonda in corrispondenza del margine posteriore del testicolo stesso, formando un ammasso connettivale, che è detto **mediastino del testicolo** (o *corpo di Highmore*). Da questo si dipartono i **setti del testicolo**, che irradiano verso la superficie dell'organo per unirsi alla faccia profonda della tonaca albuginea. Tali setti suddividono il parenchima del testicolo in 200-300 **lobuli del testicolo**, ciascuno dei quali ha forma piramidale, con la base rivolta verso la superficie e l'apice verso il mediastino.

All'interno di ciascun lobulo, sono presenti ammassi di delicati filamenti, i **tubuli seminiferi contorti**. Entro ciascun lobulo del testicolo, i tubuli seminiferi contorti sono due o tre. Essi hanno una lunghezza che varia da 30 a 100 cm, con un diametro che va da 15 a 250  $\mu\text{m}$ , e sono ripetutamente avvolti su sé stessi, ramificati e anche anastomizzati fra loro. Il loro sviluppo complessivo può raggiungere una lunghezza di 300 m. Iniziano a fondo cieco, in prossimità della tonaca albuginea, e si dirigono in modo tortuoso verso il mediastino; qui giunti, i tratti terminali si fanno rettilinei (*tubuli seminiferi retti*) e sboccano nella *rete testis* del mediastino, che rappresenta la parte iniziale delle vie spermatiche (cfr. Fig. 1.4).

## Morfologia microscopica

I tubuli seminiferi contorti sono deputati alla formazione degli spermatozoi. Essi sono caratterizzati dall'**epitelio germinativo**, o *spermatogenico*, dove si distinguono

le **cellule germinali** e cellule somatiche note come **cellule di sostegno dell'epitelio spermatogenico** o di *Sertoli* (Fig. 1.5). Entrambe le popolazioni cellulari sono delimitate perifericamente da una lamina propria (**lamina peritubulare**) costituita da più strati di fibre collagene in cui abbondano filamenti contrattili, le **cellule mioidi**. Esse sono responsabili delle contrazioni ritmiche peritubulari necessarie per la progressione degli spermatozoi, non ancora dotati di motilità propria, verso il mediastino del testicolo.

I tubuli sono immersi a loro volta nel tessuto interstiziale, costituito dalle **cellule interstiziali** o di *Leydig*. Queste componenti danno vita al processo della gametogenesi maschile, ossia la **spermatogenesi** (➔ **Approfondimento** *Fattori che influenzano la spermatogenesi* e **Capp. 3 e 5**).

## Cellule germinali

Il fenomeno della spermatogenesi inizia alla pubertà e consiste nella maturazione di cellule staminali primordiali che, attraverso una serie di divisioni cellulari e di profonde modificazioni strutturali, porta alla formazione dello spermatozoo. Tale processo inizia con una serie di particolari divisioni mitotiche che danno luogo agli **spermatogoni**. Questi ultimi danno origine agli **spermatociti primari**, con i quali inizia la fase meiotica della spermatogenesi, che termina con due **spermatociti secondari**, dopo la prima divisione, e quattro **spermatidi** aploidi, dopo la seconda divisione. Lo spermatidio va poi incontro a una complessa maturazione che risulta nella trasformazione di una cellula rotondeggiante in una cellula altamente specializzata, lo **spermatozoo** (processo denominato **spermiogenesi**) (➔ **Cap. 3**).





## FATTORI CHE INFLUENZANO LA SPERMATOGENESI

Numerosi fattori influenzano la funzione del testicolo.

### TEMPERATURA

Le cellule germinali sono particolarmente sensibili a temperature superiori a quella dello scroto, che nell'uomo è di 1,5-2,5 gradi inferiore a quella della cavità addominale (circa 34 °C):

- quando i testicoli di animali adulti vengono riportati nell'addome con un intervento chirurgico, l'epitelio germinativo degenera;
- è noto come la febbre induca una sterilità temporanea; anche le frequenti immersioni in bagni caldi o gli indumenti molto stretti e aderenti possono portare a una diminuzione del numero di spermatozoi nell'eiaculato.

### FATTORI NUTRIZIONALI

Il rapporto diretto nell'uomo fra alcuni aminoacidi, come l'arginina, o alcune vitamine, come A, C ed E, e la funzione spermatogenetica è ancora oggetto di studi. Poiché, però, negli animali tale rapporto è stato dimostrato, nella pratica si usa somministrare tali sostanze nei casi di infertilità.

### VASCULARIZZAZIONE

Una torsione del funicolo spermatico può causare un'ischemia che, se breve, distrugge gli spermatidi; se l'ischemia si prolunga per un'ora, le cellule della linea germinale sono compromesse irreversibilmente.

### CRIPTORCHIDISMO

Il 10% dei neonati di sesso maschile ha testicoli che non sono completamente discesi nello scroto: questa condizione viene indicata come *criptorchidismo*. Nella maggior parte dei casi, i testicoli discendono poi spontaneamente, ma, se questo non avviene, in genere intorno ai cinque anni di età o anche prima, si ricorre a un intervento chirurgico. Oltre i cinque anni vi sono prove della comparsa di modificazioni irreversibili.

### RADIAZIONI

Le popolazioni cellulari che si dividono sono estremamente sensibili alle radiazioni. Dosi crescenti di radiazioni ionizzanti somministrate direttamente sul testicolo umano provocano risposte biologiche crescenti in modo corrispondente, rappresentate da diminuzione del numero degli spermatozoi e riduzione progressiva, fino alla scomparsa, dell'epitelio germinativo. In generale, più il dosaggio è basso, meno drammatica è la perdita di cellule e più rapido il ritorno alla normalità.

### FARMACI E SOSTANZE TOSSICHE

Alcuni farmaci utilizzati nelle terapie antitumorali o immunodepressive, come gli antimetaboliti e gli antimitotici, provocano alterazioni nella spermatogenesi spesso irreversibili.

Alcuni prodotti utilizzati nell'agricoltura, come erbicidi e pesticidi, sono potenzialmente dannosi per la spermatogenesi. Anche il piombo e la maggior parte dei metalli pesanti possono causare danni alla spermatogenesi.

### MALATTIE

Quando la parotite (orecchioni) si accompagna a infiammazione testicolare (orchite), si possono avere, specie nella pubertà, danni importanti alla spermatogenesi. Un'infezione testicolare può portare alla chiusura della barriera ematotesticolare con conseguente arresto della spermatogenesi.

### ETÀ

Dopo i 55 anni di età, la spermatogenesi si riduce molto gradualmente, mentre le cellule di Sertoli e quelle di Leydig appaiono inalterate. Aumenta, inoltre, nell'eiaculato il numero degli spermatozoi atipici e non vitali. Tuttavia, uomini sugli 80 e anche 90 anni possono ancora avere una spermatogenesi adeguata con un numero di spermatozoi che rientra nei valori normali.

La funzione endocrina delle cellule di Leydig è mantenuta dall'ormone luteinizzante (*Luteinizing Hormone*, LH), una gonadotropina ipofisaria meglio denominata qui come ormone stimolante le cellule interstiziali (*Interstitial Cell-Stimulating Hormone*, ICSH). In mancanza di LH, le cellule interstiziali vanno incontro a una grave atrofia e cessano di produrre testosterone. Per il mantenimento della spermatogenesi nell'adulto è necessaria una concentrazione molto elevata di testosterone nelle adiacenze dei tubuli seminiferi, mentre livelli periferici più bassi dell'ormone sono in grado di mantenere i caratteri sessuali secondari e la libido nel maschio.

## VIE SPERMATICHE

Le **vie spermatiche** sono rappresentate da una serie di formazioni cave che fanno seguito ai tubuli seminiferi contorti del testicolo e raggiungono l'uretra. In esse gli spermatozoi completano la loro maturazione e viene elaborata la componente liquida dello sperma.

Le componenti che si succedono lungo le vie spermatiche sono: i *tubuli seminiferi retti*, la *rete testis*, i *condottini efferenti*, l'*epididimo*, il *dotto deferente* e il *dotto eiaculatore* (cfr. Fig. 1.4).

### Tubuli seminiferi retti

I **tubuli seminiferi retti** (cfr. Fig. 1.4) sono collocati all'apice di ciascun lobulo del testicolo e sono in numero corrispondente a quello dei lobuli. Ogni tubulo seminifero retto è, infatti, la prosecuzione del singolo tubulo seminifero contorto contenuto in un lobulo del testicolo o di più tubuli seminiferi contorti del lobulo medesimo che sono confluiti fra di loro. I tubuli seminiferi retti sono lunghi circa 1-2 mm e hanno un diametro che è circa la metà di quello dei tubuli seminiferi contorti. Essi decorrono rettilinei e confluiscono nella *rete testis*.

La caratteristica principale dei tubuli seminiferi retti è la scomparsa delle cellule germinali; la loro parete è costituita, infatti, dalle sole cellule di Sertoli.

## Rete testis e condottini efferenti

La **rete testis** (cfr. Fig. 1.4) si trova entro il mediastino del testicolo. Essa è formata da un intreccio di piccoli canalicoli ampiamente anastomizzati tra loro e immersi nel tessuto connettivo fibroso che forma il mediastino stesso. Dalla **rete testis** originano una quindicina di **condottini efferenti** (cfr. Fig. 1.4), che emergono dalla superficie posterosuperiore del testicolo e formano la testa dell'epididimo. Qui ciascuno di essi si fa convoluto, descrivendo delle anse strettamente aggrovigliate che danno luogo a una formazione detta **cono vascoloso**. Nel loro interno, i condottini efferenti posseggono cellule secernenti e cellule ciliate, che servono per la progressione degli spermatozoi (non ancora mobili).

I tratti finora descritti rappresentano l'insieme delle **vie spermatiche intratesticolari**. Queste hanno un ruolo preminentemente di vie vettrici, anche se studi recenti tendono ad attribuire loro anche ruoli di rimaneggiamento del liquido seminale.

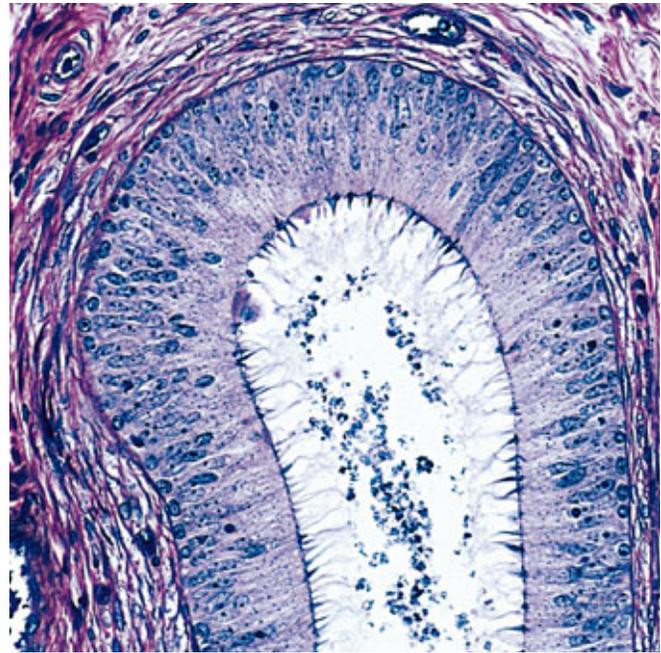
## Epididimo

L'**epididimo** (cfr. Fig. 1.4) è una formazione allungata, a forma di grossa virgola, lunga circa 5 cm, che si adatta al polo superiore e al margine posteriore del testicolo. In esso si distinguono, dall'alto verso il basso:

- la **testa**, in continuità con il testicolo tramite i condottini efferenti;
- il **corpo**, che si adatta al margine posteriore del testicolo;
- la **coda**, che ne rappresenta l'estremità inferiore e si ripiega verso l'alto per continuare nel dotto deferente.

Mentre la testa è costituita da più condotti, il corpo e la coda dell'epididimo sono costituiti dal solo **canale dell'epididimo**, ripetutamente avvolto su se stesso, dal calibro di 0,5 mm e una lunghezza di 6-7 m. L'epitelio che tappezza la parete del canale dell'epididimo presenta, fra le altre, le **cellule a pennacchio** (Fig. 1.6), che posseggono, alla loro estremità apicale, lunghi microvilli; sembra abbiano il compito di assorbire acqua e proteine. La tonaca muscolare è formata da fascetti di cellule muscolari lisce che provvedono a fare procedere gli spermatozoi. All'estremità della coda, il canale dell'epididimo prosegue nel dotto deferente.

La diversa organizzazione istologica nelle varie regioni dell'epididimo riflette le differenti funzioni svolte. Infatti, nella testa si ha l'assorbimento di circa il 90% del liquido seminale e la conseguente notevole concentrazione degli spermatozoi; nella testa e nel corpo sono secrete varie sostanze, come SEP (*Specific Epididymal Protein*), sialoproteine, glicerofosforilcolina (GPC), inositolo e lattato, mentre la carnitina viene prelevata dai liquidi tissutali e concentrata; la coda funziona come riserva di spermatozoi, dove costituiscono una sorta di magma molto concentrato nell'intervallo tra un'eiaculazione e l'altra. La coda si può contrarre energeticamente in seguito a un'appropriata stimolazione nervosa.



**Figura 1.6 Epididimo: morfologia microscopica.** Micrografia di sezione trasversale del canale dell'epididimo: verso il lume si notano i lunghi ciuffi di microvilli delle cellule a pennacchio.

Nell'epididimo gli spermatozoi completano la maturazione e soggiornano in attesa di essere espulsi al momento dell'eiaculazione. Infatti, gli spermatozoi che lasciano il testicolo presentano un debole movimento circolare e sono incapaci di fecondare l'uovo, mentre quelli prelevati dalla coda dell'epididimo hanno un'accentuata motilità unidirezionale e sono in grado di fecondare l'uovo. È, quindi, chiaro che l'ambiente dell'epididimo è necessario per la maturazione degli spermatozoi. Il meccanismo con cui l'epididimo induce la maturazione funzionale degli spermatozoi è ancora oggetto di numerose indagini (➔ Cap. 3).

## Dotto deferente

Il **dotto deferente** (cfr. Figg. 1.2, 1.4) è un cordone bianco e consistente, lungo circa 40 cm e dal diametro di 2 mm, che parte dalla coda dell'epididimo e si porta in alto, fino a terminare, nella cavità pelvica, nel seno eiaculatore, che è il segmento iniziale, dilatato, del dotto eiaculatore. Il dotto deferente si suddivide in varie regioni:

- **parte scrotale**: contenuta nel sacco scrotale, in cui decorre ondulata a ridosso della coda e del corpo dell'epididimo;
- **parte funicolare**: sale rettilinea entro il funicolo spermatico, affiancata dai vasi e nervi del testicolo immersi in una matrice connettivale;
- **parte inguinale**: percorre il canale inguinale;
- **parte pelvica**: discende nella cavità pelvica fino a portarsi dietro alla base della vescica, dove si rigonfia un poco, quindi incrocia l'uretere, si affianca alla vescicola semi-

nale e si accosta a mano a mano a quello dell'altro lato, dirigendosi verso la base della prostata;

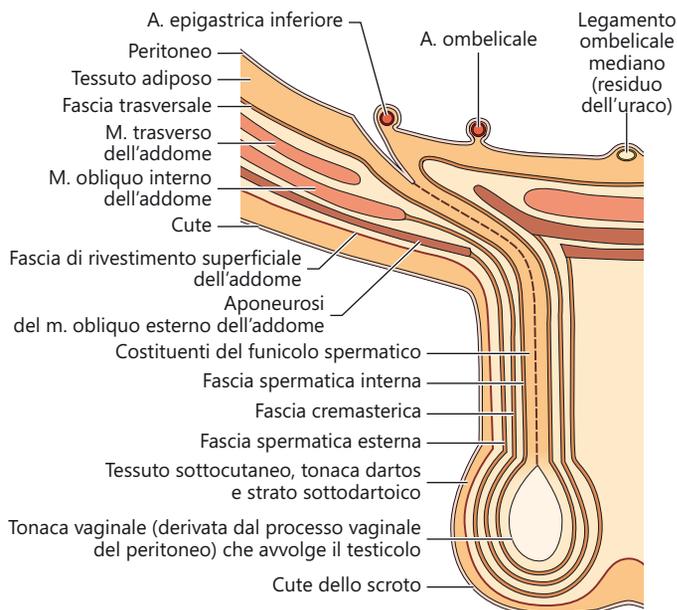
- **ampolla del dotto deferente**: è la parte terminale, dilatata, del dotto deferente. Possiede diverticoli ghiandolari ad attività secretoria che si approfondano nel circostante strato muscolare, presentando molte somiglianze con la vescicola seminale.

L'epitelio di rivestimento che tappezza la tonaca mucosa del dotto deferente si solleva in pieghe longitudinali ed è molto simile a quello dell'epididimo, con cellule a pennacchio ad attività secretoria. La parete del dotto deferente è dotata di una serie di fibre muscolari molto sviluppata ed è rinforzata da una robusta trama elastica.

Dal punto di vista funzionale, il dotto deferente rappresenta un veicolo di spermatozoi al momento dell'ejaculazione: il loro rapido trasporto è assicurato dalle contrazioni di tipo peristaltico della potente muscolatura della parete. L'ampolla del dotto deferente, a livello della base della prostata, riceve il dotto della vescicola seminale e dà origine al dotto eiaculatore.

## Dotto eiaculatore

Il **dotto eiaculatore** (cfr. Fig. 1.2), di circa 2 cm di lunghezza, deriva dall'unione del dotto deferente con il dotto della vescicola seminale corrispondente; si addentra, poi, nello spessore della prostata, dove, decorrendo dall'alto in basso e dall'indietro in avanti, raggiunge l'uretra prostatica in corrispondenza di una porzione ispessita della tonaca mucosa uretrale, detta collicolo seminale (cfr. Fig. 1.9). I due



**Figura 1.7 Funicolo spermatico.** Si noti la continuità di alcune tonache del testicolo con gli involucri del funicolo spermatico. In questa sezione trasversale lo scroto è stato sollevato in posizione orizzontale.

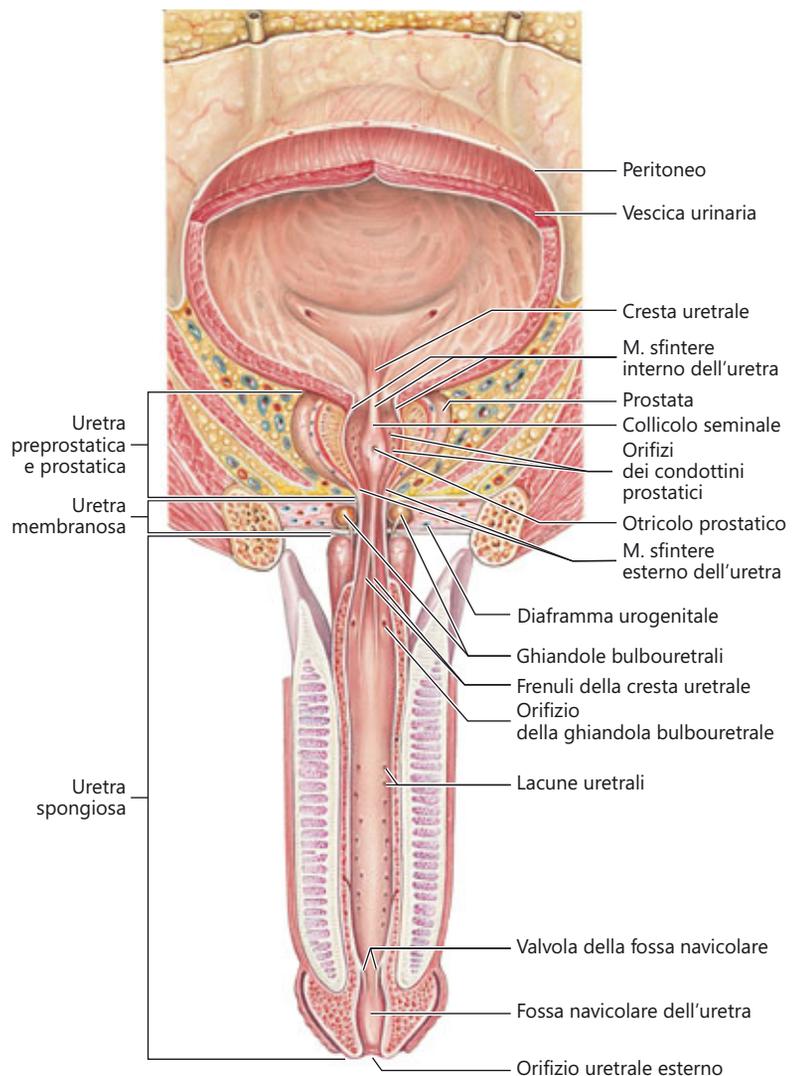
dotto sono quindi contenuti interamente nella prostata, dove decorrono molto vicini tra di loro.

## FUNICOLO SPERMATICO

Il **funicolo spermatico** (o *cordone spermatico*) (Fig. 1.7) è la formazione che tiene sospeso il testicolo entro lo scroto. La sua parete è costituita principalmente dal muscolo cremastere, mentre il contenuto è dato da dotto deferente, arterie e vene testicolari, vasi linfatici e nervi del testicolo.

## URETRA MASCHILE

L'**uretra maschile** (Fig. 1.8) è un lungo canale a decorso sinuoso, comune ai sistemi urinario e genitale, in quanto convoglia l'urina durante la minzione oppure lo sperma durante l'ejaculazione. Essa ha inizio in corrispondenza della vescica urinaria con l'**orifizio** (o *meato*) **uretrale interno** e termina



**Figura 1.8 Uretra maschile: decorso in una sezione frontale.**