
2

Brevi richiami all'anatomia e alla fisiopatologia

Come si è detto, l'infertilità maschile ha eziologie complesse. La capacità riproduttiva è controllata da un bilanciato sistema ormonale costituito dall'ormone ipotalamico GnRH (*Gonadotropin-Releasing Hormone*), dagli ormoni ipofisari LH (*Luteinizing Hormone*) e FSH (*Follicle-Stimulating Hormone*) e dagli ormoni testicolari androgeni. Ogni disfunzione che interessi questa complessa rete endocrina può comportare difetti testicolari e alterata spermatogenesi. Anche affezioni delle vie escrettrici (epididimi, prostata, vescicole seminali), che contribuiscono alla secrezione del liquido seminale, possono causare una riduzione della capacità fertilizzante. Sono stati riconosciuti, inoltre, molti fattori ambientali esterni, quali il calore distrettuale, sostanze chimiche varie e particolari stili di vita.

Il testicolo origina dalla gonade indifferenziata per l'azione determinante del gene SRY. Ha una funzione endocrina in quanto secerne due ormoni, il testosterone (T) e l'ormone antimulleriano (AMH). Il testosterone è un ormone steroideo prodotto dalle cellule interstiziali di Leydig ed è secreto a partire dall'ottava settimana di sviluppo embrionale. Viene convertito in diidrotestosterone (DHT) dall'enzima 5-alfa reduttasi. All'interno delle cellule bersaglio (quelle cioè che devono rispondere alla sollecitazione dell'ormone) sia il T che il DHT si legano a un recettore per gli androgeni. Il mancato legame con questa proteina, se assente o poco funzionante, è responsabile, come verrà chiarito in seguito, delle femminilizzazioni testicolari, complete e incomplete.

L'ipoplasia delle cellule di Leydig si accompagna ad assenza delle cellule germinali e prevalenza delle cellule di Sertoli; il testosterone in questi casi è quasi assente. Il fenotipo è femminile con segni variabili di virilizzazione e le gonadi risultano disgenetiche.

L'ormone antimulleriano AMH viene secreto dalle cellule di Sertoli ed è prodotto da un gene (MIF, *Mullerian Inhibiting Factor*) che mappa sul cromosoma 19. Ha la funzione di far regredire nel maschio gli abbozzi embrionali delle strutture che derivano dai dotti di Muller (tube di Falloppio, utero e vagina superiore). La mancata funzione di MIF dà una sindrome genetica a eredità autosomica recessiva, caratterizzata da pseudoermafroditismo interno e criptorchidismo.

Le gonadotropine LH e FSH hanno un comportamento variabile durante la gravidanza, raggiungendo il massimo picco tra il quarto e quinto mese di gestazione per divenire quasi non dosabili alla fine della gravidanza. La produzione ipofisaria di LH e FSH è stimolata dall'ormone GnRH (*Gonadotropin-Releasing Hormone*). Nel feto però l'attività ormonale del testicolo non è tanto regolata da LH e FSH, quanto dalla gonadotropina corionica (HCG, *Human Choronic Gonadotropin*) di provenienza materna. I livelli di HCG risultano elevati alla nascita. Il gene AMELY (*AMELogenin Y*) mappa su Yp e la ricerca della sua presenza viene utilizzata per rilevare delezioni interstiziali del braccio corto del cromosoma Y [2].

■ 2.1 Caratteri normali e patologici del liquido spermatico

Nel feto, a partire dal sesto mese, sono presenti nella parete dei tubuli seminiferi primitivi cellule germinali primordiali e cellule epiteliali; dalle prime avranno origine gli spermatogoni, dalle seconde le cellule di Sertoli. Le cellule di Leydig si trovano tra gli interstizi dei tubuli e iniziano la sintesi del testosterone già dopo il secondo mese di gestazione.

Le parti che compongono lo spermatozoo, riconoscibili alla microscopia elettronica, sono:

- la testa, formata dal nucleo e dall'acrosoma;
- il collo, che è la zona di attacco della testa al flagello;
- il flagello, che consente la mobilità dello spermatozoo ed è formato da tre segmenti: intermedio, principale e terminale.

Nello spermocitogramma sono riportate in percentuale le principali proprietà dei nemaspermi. Va tenuto presente che la deviazione standard (DS) dei valori che si riscontrano in campioni di maschi fertili è abbastanza ampia (ad esempio, oscillazioni da 48% a 98% sono compatibili per le forme dei nemaspermi ritenute normali) (Figg. 1-13).

Il numero minimo normale di spermatozoi si ritiene che sia circa 20 milioni/ml. Le cellule tonde (leucociti, epitelii uretrali, ecc.) non devono superare 5 milioni/ml; in particolare i leucociti devono trovarsi al di sotto di 1 milione/ml. Un loro aumento è segno di processi infettivi, ma anche di subfertilità non associata necessariamente a infezioni.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità già da tempo (2000) ha dettato linee-guida che indicano i valori normali e patologici di un eiaculato. Ricordiamo che l'eiaculato, o liquido seminale, è formato da due componenti: gli spermatozoi, prodotti dai testicoli, e il plasma seminale, secreto dalle ghiandole accessorie (prostata, vescicole seminali, ghiandole bulbouretrali).

Forme considerate normali: >80% (Fig. 1)



Fig. 1 Spermatozoo normale, testa ovalare, tratto intermedio (collo) e flagello, o coda, disteso. Osservazione in contrasto di fase a 40x. Testa ovale: 4 x 2,5 μm ; tratto principale: 8 μm ; flagello disteso, 45 o piú μm . L'acrosoma deve comprendere almeno la metà della testa

Forme irregolari: >5-6% (Figg. 2, 3)



Fig. 2 Spermatozoo con tratto intermedio ad angolo retto e tratto terminale del flagello, o coda, attorcigliato. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 3 Spermatozoo con due teste allungate, tratto intermedio normale e flagello, o coda, allungato. Osservazione in contrasto di fase a 40x. Testa senza una ben precisa morfologia. Le dismorfologie della testa comprendono la duplicazione, la macrosomia, la microsomia, la conformazione a pera

Flagello anomalo (avvolto, angolato): 5% (Figg. 4-7)



Fig. 4 Spermatozoo con testa grande e anomala, con 5 flagelli, o code. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 5 Spermatozoo macrosomico con testa e tratto intermedio di dimensioni maggiori, con flagello, o coda, attorcigliata nel tratto intermedio. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 6 Spermatozoo con testa allungata, tratto intermedio a “U” e flagello, o coda, ispessito. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 7 Spermatozoo con vacuolo citoplasmatico nel tratto intermedio, flagello, o coda, inspessito. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Forme immature (presenza di vacuoli citoplasmatici di dimensioni quasi pari alla testa): >2% (Fig. 8)



Fig. 8 Spermatozoo con vacuolo citoplasmatico nel tratto intermedio, da non confondersi con testa bilobata (si intravede il tratto intermedio normale). Osservazione in contrasto di fase a 40x

Testa piriforme: 2% (Fig. 9)



Fig. 9 Spermatozoo con testa piriforme, tratto intermedio integro e flagello, o coda, ad angolo acuto. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Spermatozoi doppi: <2% (Fig. 10)



Fig. 10 Spermatozoi con 2 teste, una macrosomica e l'altra normale. Unico tratto iniziale e intermedio e 2 code. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Spermatozoi allungati, microcefali, macrocefali: 1% (Figg. 11-13)

Fig. 11 Spermatozoo con tratto intermedio normale e allungato nella testa e nel flagello, o coda. Osservazione in contrasto di fase a 40x

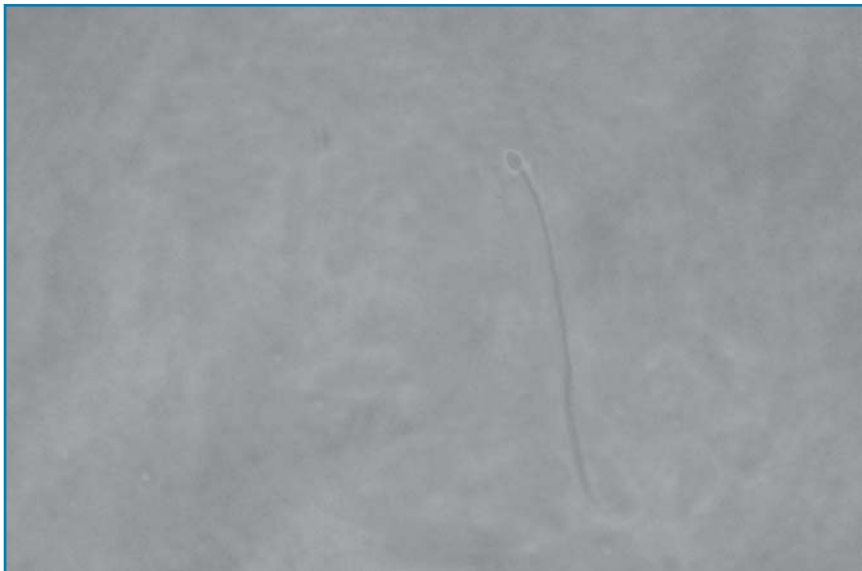


Fig. 12 Spermatozoo microcefalo con tratto intermedio e flagello, o coda, non distinguibile. Osservazione in contrasto di fase a 40x



Fig. 13 Spermatozoo macrocefalo con tratto intermedio normale e 2 code. Osservazione in contrasto di fase a 40x

Va ricordato inoltre che, per ottenere esami attendibili, il campione, raccolto dopo astinenza di almeno 2 giorni, ma non superiore a una settimana, deve essere consegnato al laboratorio in tempi brevi (entro mezz'ora dal prelievo). Se il prelievo non viene effettuato nella stessa sede degli esami, va posta attenzione a evitare di esporlo durante il trasporto a variazioni termiche (specie alle basse temperature).

Sono ritenuti normali i seguenti parametri:

- *Volume del liquido spermatico*: da 2 ml a 5 ml.
- *Concentrazione degli spermatozoi*: uguale o superiore a 20 milioni/ml; questo valore lascia quindi prevedere in un intero eiaculato la presenza di più di 40 milioni di spermatozoi.
- *Motilità progressiva*: la percentuale di spermatozoi validamente progressivi, calcolata entro 60 minuti dall'eiaculazione, deve essere superiore a 25%. Sono stati anche ideati criteri di valutazione della motilità, in base al comportamento a 60 minuti di osservazione: tipo A: motilità progressiva rapida; tipo B: motilità progressiva lenta; tipo C: motilità non progressiva; tipo D: assenza di motilità.
- *Vitalità*: la percentuale di spermatozoi vitali deve essere superiore a 75%.
- *Morfologia*: le forme definite normali devono essere superiori a 15%. Un test che consente di differenziare gli spermatozoi mobili da quelli immobili (necrospermi) è l'*Hypo-Osmotic Swelling Test* (HOST). Si basa sul principio che solo gli spermatozoi mobili rispondono a un gradiente osmotico, gonfiandosi in soluzione ipotonica. Il fenomeno va osservato al microscopio a contrasto di fase. Il test si rivela utile quando è necessario fare la selezione degli spermatozoi vivi (ad esempio, nella ICSI).

- *pH*: deve essere compreso tra 7,2 e 8.
- *Fruttosio*: nel liquido seminale questo zucchero ha una concentrazione media di circa 1,5 mg/ml. Nell'azoospermia escretoria è quasi assente.

Altri test di valutazione sono:

- *Anticorpi antispermatozoi (ASA)*: diverse metodiche sono in grado di scoprire la presenza di ASA, costituiti da una delle famiglie delle immunoglobuline (IgG, IgA, IgM). Si ricercano, oltre che nel liquido seminale, anche nel sangue di entrambi i coniugi e nelle secrezioni vaginali e cervicali. Un test diagnostico è quello dell'agglutinazione (reciproca adesione di nemaspermi mobili) che non deve normalmente superare 5%. Valori più alti sono indicativi di una patologia autoimmunitaria. I fattori che possono indurre la produzione di ASA sono molti: le ostruzioni meccaniche, il varicocele, le infezioni (batteriche, virali e fungine), le torsioni del funicolo, ecc. Non è noto il meccanismo patogenetico con cui gli anticorpi antispermatozoi inducono la subfertilità. Oltre al test di agglutinazione, si può valutare la presenza di anticorpi utilizzando anche altre metodiche, come l'*immuno-bead test (IBD)* e la metodica delle particelle aderenti a nemaspermi vitali (*Mixed Antiglobulin Reaction, MAR*). Normalmente non più del 10% degli spermatozoi mobili aderisce agli eritrociti agglutinati; percentuali superiori sono indicative di probabile infertilità immunologica.
- *Post-Coital Test (PCT)*: serve a valutare la capacità di sopravvivenza degli spermatozoi nel muco cervicale. Un risultato negativo (numero di spermatozoi inferiore a 20 per campo ottico) richiede indagini estese anche alla donna (cicli anovulatori, disfunzioni ormonali, infezioni, ecc.).
- *Integrità del DNA*, con tecniche fluorocitometriche, come la *SCSA (Sperm Chromation Structure Assay)* [3].

I *CASA (Computer Assisted Semen Analysis)* sono invece sistemi di analisi computerizzata del liquido seminale.

■ 2.2. Anomalie strutturali e funzionali degli spermatozoi

Le anomalie della struttura e i difetti funzionali degli spermatozoi possono coinvolgere l'intera cellula o singole sue parti (la testa o la coda). Per il loro riconoscimento si utilizzano strumenti e procedure tecniche particolari, quali la microscopia elettronica e le analisi molecolari (*Fluorescence In Situ Hybridization, FISH*), tecniche di immunofluorescenza, e altre. Si ottiene in questo modo una accurata valutazione funzionale degli spermatozoi che sfuggirebbe altrimenti con l'impiego della semplice microscopia ottica. Ad esempio, l'immunofluorescenza consente di riconoscere i componenti della coda; specifici anticorpi monoclonali fanno evidenziare due importanti proteine, la tubulina (componente dell'assonema) e la proteina AKAP4 (Fig. 14), componente fondamentale del rivestimento fibroso; le analisi molecolari consentono di riconoscere le frammentazioni della catena del DNA, presenti in alcuni difetti acrosomici (Fig. 15).

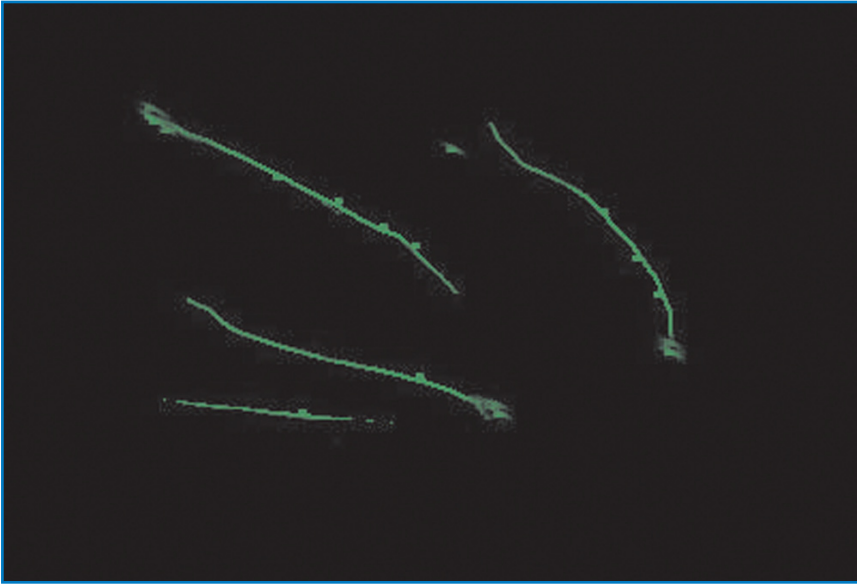


Fig. 14 Proteina AKAP4 (puntini verdi legati lungo il decorso della coda), tra i componenti più importanti del rivestimento fibroso della coda dello spermatozoo. Osservazione all'immunofluorescenza

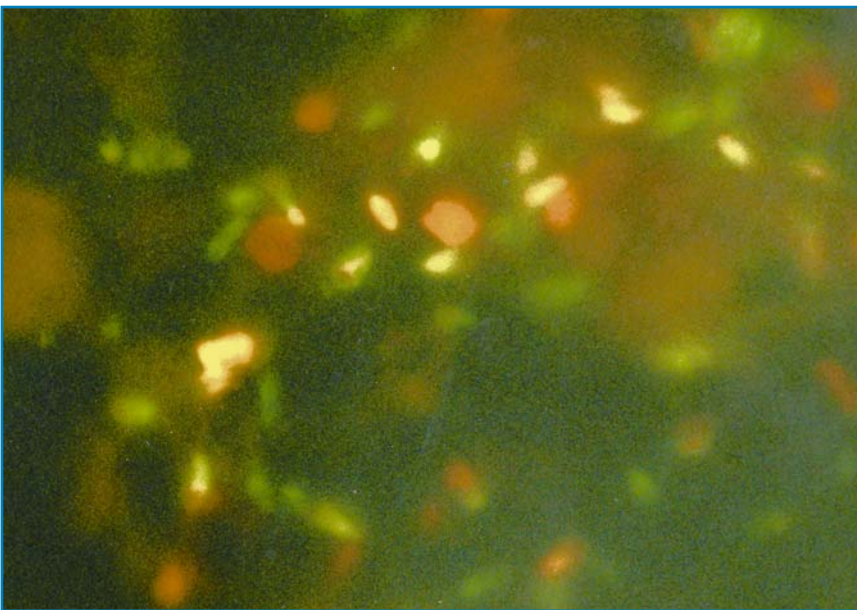


Fig. 15 Acrosoma (arancio chiaro), corpo centrale della testa con catena del DNA integra (verde), testa con catena del DNA severamente danneggiata (rosso), testa con catena del DNA lievemente danneggiata (giallo). Osservazione all'immunofluorescenza

■ 2.3 DNA danneggiato e frammentato

Nella infertilità si trovano spermatozoi con DNA danneggiato in percentuali maggiori dell'atteso (Fig. 16).

Rimangono ancora sconosciuti i fattori che inducono questi danni molecolari e si ignora il rapporto causale fra queste alterazioni molecolari e l'infertilità. La ICSI bypassa la barriera naturale selettiva, per cui c'è il rischio di introdurre spermatozoi contenenti DNA danneggiato, con conseguenze non prevedibili [4]. Si ritiene che test idonei a scoprire un DNA danneggiato potrebbero avere una forte importanza prognostica e consentire così parametri di valutazione nelle coppie infertili.

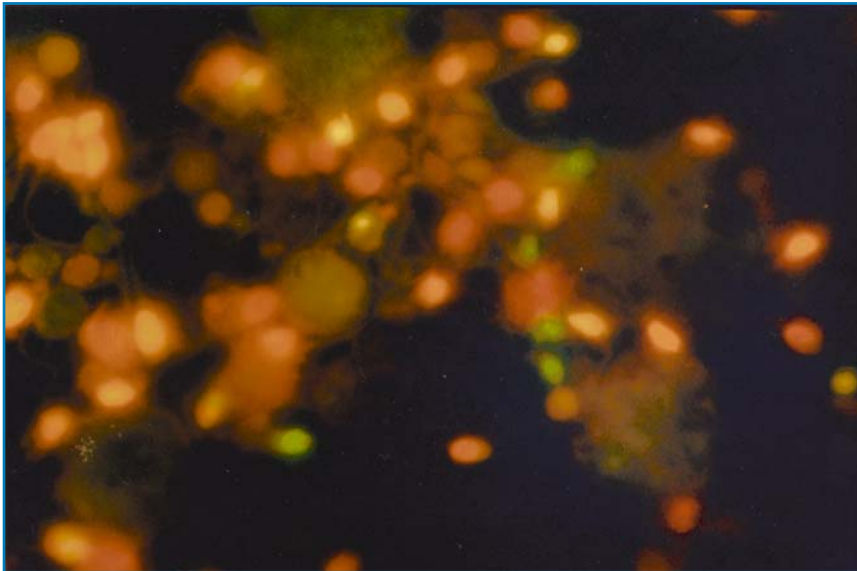


Fig. 16 Integrità del DNA dello spermatozoo. In rosso DNA danneggiato, in verde DNA integro. Osservazione alla immunofluorescenza

■ 2.4 Terminologia

Per “aspermia” si intende l'assenza di eiaculato, spesso dovuta a eiaculazione retrograda; in queste condizioni si ritrovano nelle urine i nemaspermi. L'aspermia può essere conseguenza del trattamento chirurgico del carcinoma del testicolo o della legatura dei vasi deferenti. Un eiaculato inferiore a 1 ml deve fare sospettare una eiaculazione retrograda.

Alcune rare anomalie congenite dell'apparato uro-genitale, come l'estrofia vescicale e l'epispadia, possono essere la causa di eiaculazione retrograda. Il difetto è anche una complicanza frequente della prostatectomia.

L'“azoospermia” è l'assenza totale degli spermatozoi. Si può trovare sia negli ipogonadismi ipogonadotropi che ipergonadotropi. In base all'eziologia, le azoospermie si classificano in “non ostruttive” (secretorie) e “ostruttive” (escretorie). Queste ultime sono meno frequenti e più curabili delle prime. Le forme secretorie non ostruttive hanno cause molto eterogenee, in gran parte ancora poco conosciute. Possono indurre difetti nelle varie tappe del processo meiotico, dalla completa assenza di meiosi, all'arresto nella profase dello stadio di zigotene, al mancato o non corretto appaiamento nelle ricombinazioni sinaptiche nella fase di pachitene. Questi difetti sono spesso cromosomici, ma alla loro origine vi sono sempre cause genetiche, disfunzioni cioè dei geni preposti al controllo della divisione meiotica. Le azoospermie ostruttive (escretorie) inducono infertilità con un meccanismo adiabatico: gli spermatozoi cioè non sono assenti, ma restano bloccati nella sede di produzione.

Con il termine “oligospermia” si indicano situazioni in cui la concentrazione degli spermatozoi è inferiore a 20 milioni/ml. Un'oligozoospermia viene considerata di grado severo quando il numero di nemaspermi è inferiore a 3 milioni/ml. Sono molto spesso difetti non ostruttivi secretori. Una concentrazione di spermatozoi inferiore a 1 milione/ml si definisce “criptospermia” (oligospermia secretoria con un volume normale di eiaculato).

L'“astenozoospermia” è la condizione per cui gli spermatozoi validamente progressivi sono inferiori al 25% (entro 60 minuti dall'eiaculazione). Il difetto è frequente, può avere origini varie e caratterizza tra l'altro le malattie genetiche da discinesia primaria delle ciglia. L'astenozoospermia di grado severo è uno dei segni clinici delle sindromi da ciglia immobili; l'esempio più dimostrativo è dato dalla sindrome di Kartagener (Figg. 17, 18).

La microscopia elettronica consente il riconoscimento di particolari anomalie strutturali della coda. La sindrome 9+0, caratterizzata dall'assenza della coppia centrale di microtubuli, è un altro esempio di astenozoospermia su base genetica (Figg. 19, 20).

La scarsa mobilità è spesso associata ad altri difetti, in particolare alla oligozoospermia, dando origine a patologie miste di astenooligozoospermia.

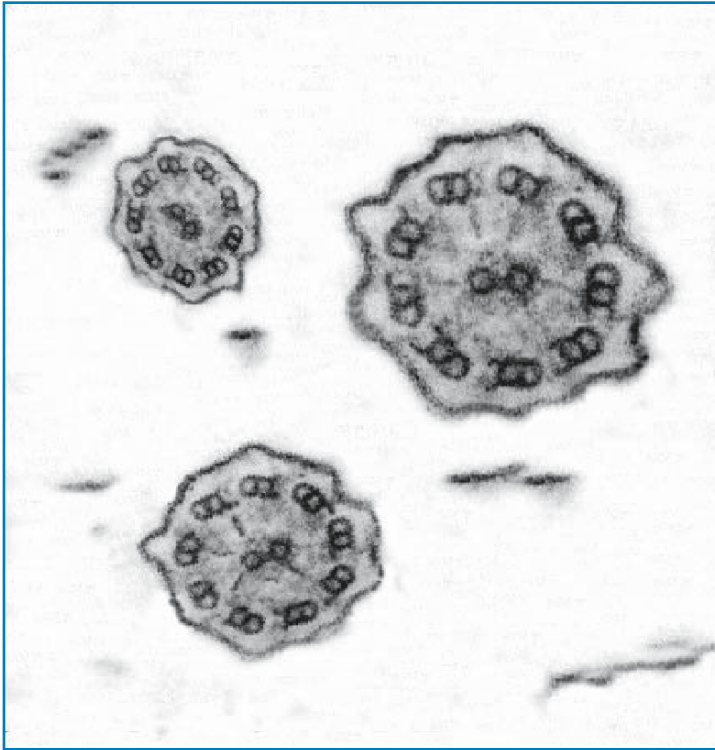


Fig. 17 Sezione di coda di uno spermatozoo normale. Normale presenza dei bracci di dineina. Tecnica TEM (Trasmission Electron Microscopy)



Fig. 18 Sindrome di Kartagener. Assenza dei bracci di dineina. Tecnica TEM

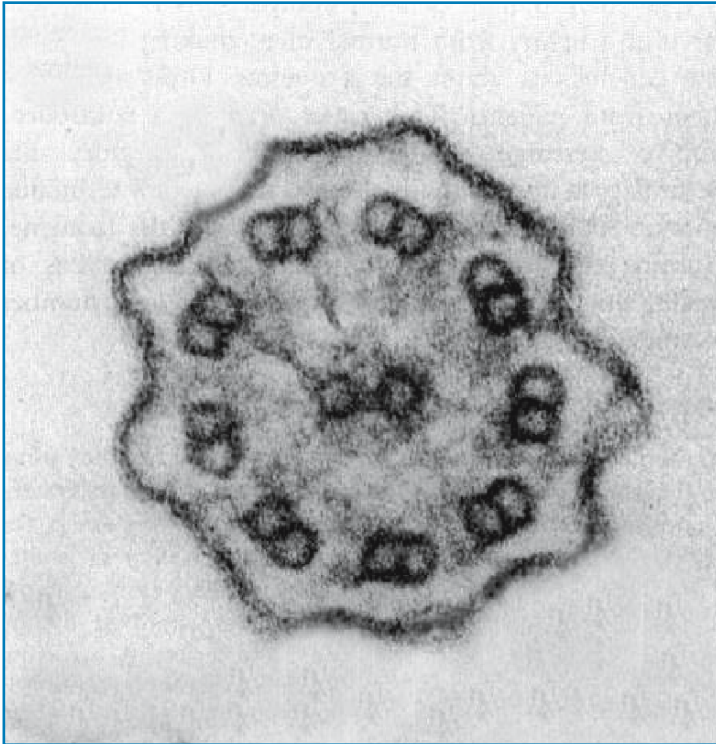


Fig. 19 Spermatozoo con coda normale. Nove coppie di microtubuli e una coppia centrale. Tecnica TEM



Fig. 20 Assenza della coppia centrale di microtubuli (sindrome 9+0). Tecnica TEM

“Teratozoospermia” è il termine utilizzato quanto si riscontra dismorfologia in più del 70% dei nemaspermi. Gli spermatozoi con questa grave anomalia sono acefalici. Il difetto risiede nella regione testa-collo per la mancata migrazione della coda al polo caudale. La fragilità nella giunzione testa-collo, per difettosa funzione del centrosoma, spiega il non raro fallimento di ICSI nei portatori di questo difetto. I casi di pura teratozoospermia sono rari e si ritiene che possano avere trasmissione genetica autosomica recessiva, anche se non sono stati ancora riconosciuti difetti molecolari [5].

La “ridotta progressione” viene valutata secondo una scala di valori pre-stabiliti. La progressione si considera ridotta quando è inferiore a 2 unità della scala MacLeod.

La “necrozoospermia” indica la morte dello spermatozoo. Nell'eiaculato si ritrova sempre una piccola percentuale di spermatozoi morti, dovuta alla necrosi cellulare. Percentuali più elevate si osservano sia nelle infezioni urogenitali di maschi fertili, che in maschi infertili senza alcuna patologia infettiva o infiammatoria. Si ritiene che la necrozoospermia sia il risultato di un processo di apoptosi e che avvenga durante il passaggio degli spermatozoi attraverso gli epididimi (necrozoospermia epididimale). La necrosi comporta sempre irreversibili danni alla struttura dello spermatozoo, particolarmente al rivestimento fibroso della coda (tubulina) con conseguente ridotta mobilità, come dimostrano gli studi di microscopia elettronica e di immunofluorescenza. Rimane tuttora oscura la patologia che causa questi disordini. Per valutare la vitalità degli spermatozoi si usa una particolare colorazione sopravvitala con eosina.

Con “globozoospermia” ci si riferisce a una rara anomalia degli spermatozoi, che appaiano con la testa rotonda (Figg. 21, 22).

Può essere totale, presente cioè in tutte le cellule, o parziale. Il grado di infertilità è in rapporto alla percentuale di spermatozoi affetti. Una globozoospermia totale comporta sempre un grado di infertilità molto grave con ridotta capacità di attivare *in vitro* gli ovociti. Dal punto di vista strutturale la cellula globozoospermica dimostra gravi difetti acrosomici, sia nella struttura della cromatina che a livello molecolare (DNA frammentato). La patogenesi potrebbe ricondursi a difetti dei geni che durante la spermiogenesi intervengono nella formazione dell'acrosoma, per cui risulta un'alterata espressione delle proteine del nucleo e/o un'alterazione funzionale dell'apparato di Golgi [5, 6]. Le anomalie citogenetiche (aneuploidie) non sono rare. Oltre all'aumentato rischio di concepimenti aneuploidi, la globozoospermia è responsabile di insuccesso di fertilizzazione *in vitro*, per la incapacità di questi spermatozoi, come detto, di attivare gli ovociti [7].

Malgrado questi riconosciuti rischi, non sembra sia stato osservato un significativo aumento di cromosomopatie (aborti o plurimalformati) tra i pochi concepiti ottenuti con la ICSI. È stata segnalata in qualche caso la ricorrenza familiare di questa patologia.

Molti dei difetti sopra ricordati sono associati, per cui derivano quadri complessi come la “oligoastenozoospermia” (ridotto numero di spermatozoi associato a scarsa motilità) e la “oligoastenoteratozoospermia” (ridotto numero di spermatozoi associato a scarsa mobilità e a dismorfologia).

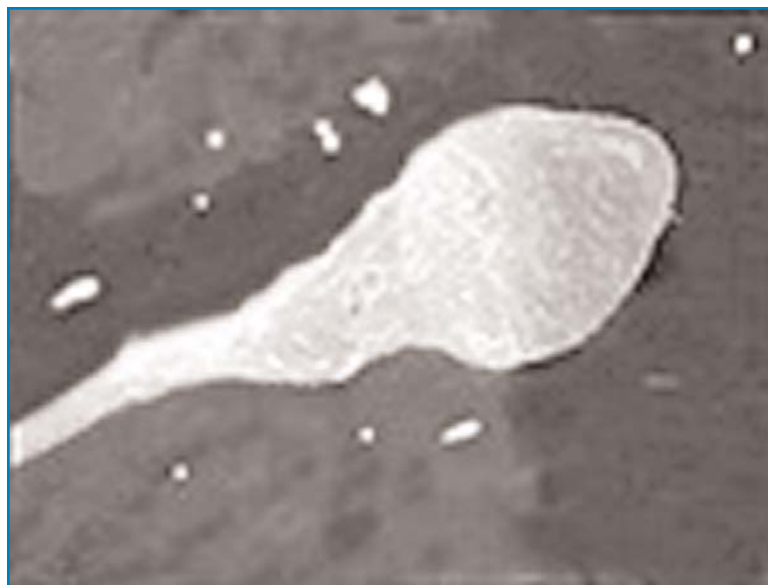


Fig. 21 Spermatozoo con normale presenza dell'acrosoma. Tecnica SEM (*Scanning Electron Microscope*)

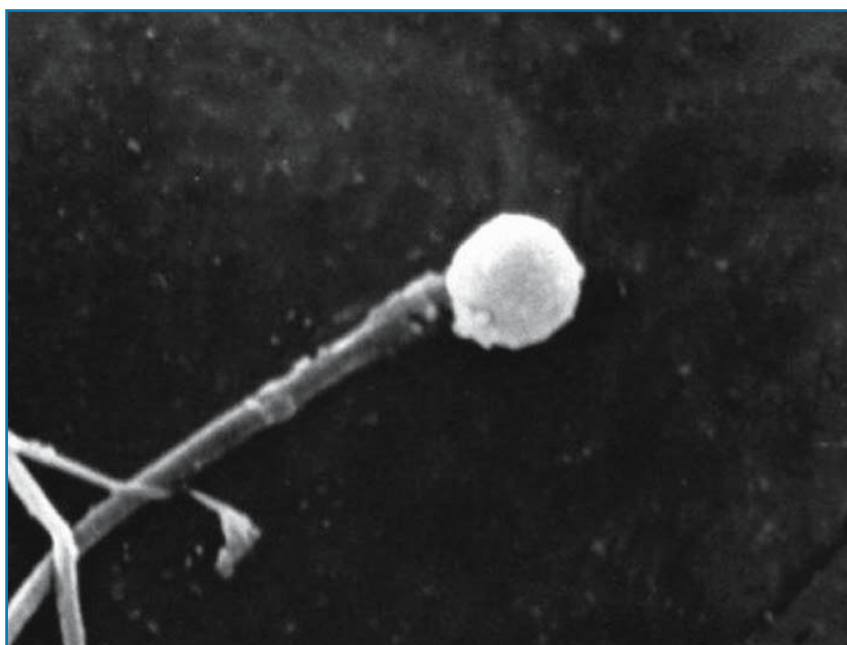


Fig. 22 Spermatozoo affetto da globozoospermia, con assenza completa dell'acrosoma. Tecnica SEM

Diversi “test funzionali spermatici” sono stati ideati allo scopo di fornire informazioni sul tipo di anomalie che causano infertilità o subfertilità: lo *swelling test*; i test all'eosina, all'anilina e all'arancio di acridina; il test di decondensazione cromatinica; il test di reazione acrosomiale; il *Post-Coital Test* (PCT).

■ 2.5 Crioconservazione degli spermatozoi

In molti casi è necessario ricorrere alla crioconservazione degli spermatozoi. Questo speciale congelamento consente di conservare le cellule per un periodo praticamente illimitato, mantenendone la capacità fecondante. Senza entrare nelle tecniche procedurali, va solo ricordato che la temperatura ha un ruolo decisivo per assicurare la sopravvivenza dei gameti. A questo riguardo l'azoto liquido (-196 °C) è preferibile ai frigoriferi a -80 °C. Fino al loro impiego, i campioni non devono subire processi di scongelamento e ricongelamento.

■ 2.6 Inseminazione artificiale

Si riferisce alle tecniche che comportano la deposizione dei gameti maschili nelle vie genitali femminili e, a seconda della procedura, si parla di inseminazione vaginale, cervicale, uterina; più di rado si ricorre a quella tubarica e follicolare.

Si ricorre a queste tecniche in diversi casi di infertilità di coppia. Le procedure richiedono, tra l'altro, la stimolazione ovarica e un'adeguata preparazione del liquido seminale in precedenza studiato a livello funzionale. Il successo di queste tecniche è legato a vari fattori, tra cui l'età della donna. È infatti dimostrato che le possibilità di gravidanza decrescono notevolmente dopo i 40 anni, anche se i risultati vanno considerati anche in rapporto all'età maschile.

■ 2.7 Tecnica ICSI

Questa tecnica (*Intra-Cytoplasmic Sperm Injection*) viene preferita alla FIVET quando il numero assoluto degli spermatozoi normali per morfologia e mobilità è inferiore a 500 000.

Le cellule possono provenire dall'ejaculato, ma anche talvolta dall'epididimo e dal testicolo. La percentuale di successi, se considerati in base agli ovociti fertilizzati, è mediamente del 70% quando si utilizzano gameti dell'ejaculato; risultati inferiori si hanno con spermatozoi epididimari o testicolari. Il *transfer* embrionario è di solito molto elevato (90%).

Con la ICSI viene aggirata la selezione naturale degli spermatozoi, per cui è logico prevedere in qualche caso la nascita di soggetti che non sarebbero stati altrimenti concepiti. Complessivamente considerati, si tratta però di eventi piuttosto rari e spesso evitabili se viene preliminarmente eseguita una consulenza genetica. Sembra tuttavia accertato che nei concepiti con la ICSI vi è un aumento, se pur leggero, di aneuploidie dei cromosomi, specie di quelli sessuali.

Alcuni dati sul follow-up di bambini nati con la ICSI indicano valori del 2% di cromosomopatie e altrettanta percentuale di malformazioni congenite. Nella maggioranza dei casi le cromosomopatie sono *de novo*, avendo i genitori un cariotipo normale; non si è però finora risaliti alle cause di questa complicazione.

Va aggiunto che, anche se i trattamenti ormonali eseguiti per correggere un'infertilità, come risaputo, possono indurre nel feto malformazioni degli organi genitali, non è improbabile che il constatato, se pur lieve, aumento di malformazioni congenite nei nati da fecondazione assistita sia dovuto alle cause stesse della infertilità. Non va, inoltre, trascurato il fatto che è stata trovata una correlazione tra la frequenza di aneuploidie degli spermatozoi e l'età dei maschi trattati.