



Università degli Studi di Catania

Dipartimento di Medicina Interna e Patologie Sistemiche

Sezione di Endocrinologia, Andrologia e Medicina Interna

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Dottorato di Ricerca in “Scienze Andrologiche”,

della Riproduzione Umana e Biotecnologie

XXIII Ciclo

Dr. Sandro La Vignera

Caratterizzazione ultrasonografica della regione vescicolare

in pazienti infertili con neuropatia diabetica

Tesi di Dottorato

Relatori:

Tutor : Ch.mo Prof. Rosario D'Agata

Coordinatore : Ch. mo Prof. Enzo Vicari

Indice

Argomenti	Pag.
Meccanismi coinvolti nell'infertilità secondaria a malattia diabetica	2
La neuropatia diabetica	5
Vescicole seminali	10
Scopo dello studio	13
Pazienti e metodi	14
Risultati	18
Discussione	20
Bibliografia	24
Tabelle e figure	28

MECCANISMI COINVOLTI NELL'INFERTILITA'

SECONDARIA A MALATTIA DIABETICA

I meccanismi potenzialmente determinanti alterazione dei parametri spermatici nei pazienti con diabete mellito (DM) possono essere classificati in: meccanismi pre-testicolari, testicolari e post testicolari.

1) Possibili meccanismi pre-testicolari

- a) **Alterato rilascio di GnRH ipotalamico:** nei pazienti diabetici insulino-dipendenti si osserva un alterato rilascio di GnRH ed una conseguenziale ridotta risposta gonadotropinica, in particolare uno studio condotto da Baccetti e coll. Riguardante la funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo e la struttura degli spermatozoi valutata al microscopio elettronico, la risposta delle gonadotropine dopo somministrazione di GnRH (100 µg) risultava significativamente più bassa nei soggetti diabetici rispetto al gruppo controllo (Baccetti et al., 2002);
- b) **Ipogonadismo ed eccessiva aromatizzazione degli androgeni:** numerosi studi hanno dimostrato che un range compreso tra il 20 e il 64% di uomini con DM si caratterizza per condizione clinico-laboratoristica di ipogonadismo, con una prevalenza maggiore fra gli uomini più anziani (Chandel et al, 2008). L'ipogonadismo rappresenta esso stesso un fattore di rischio riconosciuto per lo sviluppo di diabete favorendo l'insorgere di vari meccanismi che includono: cambiamenti della composizione corporea, polimorfismi dei recettori per gli androgeni, trasporto del glucosio e ridotto effetto antiossidante. Per contro, il DM rappresenta esso stesso fattore di rischio per l'insorgenza di l'ipogonadismo attraverso altri meccanismi, quali

l'aumento del peso corporeo, la riduzione delle globuline che legano gli ormoni sessuali, la riduzione del rilascio di gonadotropine, l'inibizione della produzione steroidea testicolare citochino-mediata e l'aumentata attività di aromatizzazione che contribuisce all'aumento degli estrogeni (Kalyani & Dobs, 2007);

2) **Possibili meccanismi iuxta testicolari**

a) Iperproduzione di radicali liberi nel liquido seminale: nei pazienti diabetici lo stress ossidativo è aumentato a causa dell'iperproduzione di radicali liberi di ossigeno (ROS) e della diminuita efficienza dei meccanismi antiossidanti, un processo che inizia molto precocemente e che peggiora con il decorso della malattia. Durante lo sviluppo del diabete, l'ossidazione dei lipidi, delle proteine e del DNA cresce con il tempo. Sono state inoltre riscontrate mutazioni del DNA mitocondriale nei tessuti diabetici (Amaral et al., 2008). In particolare un altro fattore coinvolto nell'aumento della quantità di ROS nel liquido seminale è rappresentato dalla iper-produzione di prodotti finali di glicazione non enzimatica (La Vignera et al., 2011a);

b) Aumentata percentuale frammentazione del DNA: oltre ad una alterazione dei parametri convenzionali del liquido seminale (densità, morfologia e motilità), si osserva alterazione di parametri molecolari, tra i quali un'aumento della percentuale di frammentazione del DNA nucleare e mitocondriale (Agbaje et al., 2007), fenomeni legati a processi di apoptosi cellulare incontrollata, stress ossidativo e incompleta maturazione durante la spermiogenesi;

c) Aumentata percentuale di spermatozoi con potenziale di **membrana mitocondriale ridotto**, condizione fortemente condizionante la cinetica

degli spermatozoi, in particolare l'acquisizione di motilità progressiva (Agbaje et al., 2007).

3) **Possibili meccanismi post testicolari**

- a) **Flogosi urogenitali croniche:** il DM ha un alto numero di effetti a lungo termine sul sistema genitourinario. Tale caratteristica predispone a infezioni batteriche del tratto urinario (Patterson & Andriole, 1997). Inoltre le infezioni rappresentano un modello clinicamente rilevante di stress ossidativo spermatico. Il DM associato a infezione uro-genitale peggiora la concentrazione di leucociti e di ROS nel liquido seminale, senza alterare i parametri convenzionali (La Vignera et al., 2011);
- b) **Aumentata concentrazione di citochine negli organi riproduttivi maschili:** i processi infiammatori sono regolati, sia a livello locale che sistemico, da numerosi segnali biochimici. Tra i più importanti vi è una classe di molecole denominata citochine, classificabili in pro-infiammatorie e anti-infiammatorie e coordinano una normale risposta immunitaria. Nei pazienti con DM di tipo 2 vi è uno squilibrio nella loro produzione a favore delle prime e sono potenzialmente la causa o l'esacerbazione delle comuni complicanze del diabete. Un loro aumento nell'apparato genitale maschile è correlato ad una condizione di infertilità (Guest et al., 2006).

LA NEUROPATIA DIABETICA

La neuropatia diabetica è definita come la presenza di sintomi e/o segni di disfunzione dei nervi nei soggetti con diabete dopo l'esclusione di altre cause (Tavakoli et al., 2008). E' una delle più comuni complicanze del DM, si stima infatti che, dopo 25 anni di malattia diabetica, circa il 50% dei pazienti sviluppi tale condizione con una prevalenza di circa 2400 casi su 100000 pazienti (Gatto & Romaniello, 2008).

Secondo le attuali ipotesi patogenetiche, numerosi meccanismi concorrono per la formazione del danno neurologico. Esse sono:

- **Attivazione della via dei polioli:** se le concentrazioni di glucosio intracellulare sono aumentate a tal punto da superare i processi di fosforilazione e successiva glicolisi, esso viene convertito a sorbitolo mediante una reazione catalizzata dall'enzima aldoso-reduttasi. Il sorbitolo si accumula in questi casi nelle cellule di Schwann determinando un'alterazione del potenziale di ossidoriduzione;
- **Glicazione non enzimatica delle proteine:** il glucosio si lega al gruppo amminico delle proteine formando le basi di Schiff cioè prodotti precoci di glicazione, ancora reversibili. Da essi si possono formare i composti di Amadori, poco reversibili, fino ad arrivare alla produzione di prodotti avanzati di glicazione (AGE), non reversibili. Questi ultimi sarebbero responsabili dell'attivazione macrofagica, della produzione di ROS e della riduzione della produzione di ossido nitrico (Emdin, 2001);
- **Stress ossidativo:** L'alterazione dei potenziali di ossidoriduzione determinata dall'attivazione della via dei polioli rende le cellule più suscettibili

all'azione di radicali liberi prodotti e rilasciati durante il riarrangiamento delle proteine glicate ad AGE (Faglia & Beck-Peccoz, 2006);

- **Attivazione della protein chinasi C (PKC):** l'iperglicemia favorisce l'aumento della produzione di diacilglicerolo e, da esso, della PKC. Le potenziali conseguenze della sua attivazione sono numerose quali: aumento di TGF- β e quindi di collagene e fibronectina, di PAI-1 con diminuzione della fibrinolisi, di VEGF, di NFkB e diminuzione di ossido nitrico. Le rispettive conseguenze sono: ispessimento della membrana basale delle cellule endoteliali, occlusione vasale, angiogenesi, espressione di geni pro-infiammatori, anomalie del flusso ematico. Tutto ciò determina microangiopatia dei vasa nervorum creando un deficit dell'afflusso di sangue ai nervi e quindi ipossia;
- **Produzione di autoanticorpi:** presenza di autoanticorpi diretti contro il fattore di crescita nervoso e insulino-simile, fosfolipidi, gangli simpatici, fibre simpatiche e vagali (Emdin et al., 2001).

Nelle fasi iniziali della neuropatia, i processi di degenerazione e demielinizzazione sono compensati da quelli di riparazione degli assoni e di rimielinizzazione ma, con la progressione della malattia, i meccanismi di compenso diventano meno efficaci portando ad alterazioni strutturali e a riduzione della velocità di conduzione nervosa (Tavakoli et al., 2008).

Dal punto di vista clinico, la neuropatia si può manifestare come polineuropatia, mononeuropatia e/o neuropatia autonoma. La polineuropatia simmetrica distale è la forma più comune di neuropatia diabetica.

Generalmente le alterazioni della sensibilità iniziano alle dita dei piedi e si diffondono in senso prossimale fino alle gambe e sono avvertite come sensazione di formicolii, dolore lancinante o urente, sensazione di calore o di freddo, allodinia oppure perdita della sensibilità dolorifica e discriminativa.

Talvolta possono essere interessati gli arti superiori e anche qui l'estensione del disturbo avviene in senso prossimale partendo dalle dita delle mani. Con l'avanzare della malattia si avvertono anche disturbi motori a piccoli gruppi muscolari delle mani e degli arti soprattutto al risveglio. In alcuni pazienti, il dolore neuropatico peggiora durante la notte causando continui risvegli. E' utile far determinare dal paziente il grado di dolore descrivendo la sua distribuzione, gravità e frequenza attraverso scale di valutazione anche se si tratta di una valutazione soggettiva poiché la sua percezione varia con la cultura, con l'umore, con le precedenti esperienze dolorose, con l'aspettativa di guarigione, ecc.

La neuropatia motoria prossimale, detta anche neuropatia amiotrofica, si suppone sia determinata da una sovrapposizione dei sintomi focali a quelli della neuropatia simmetrica distale con danno vascolare alla radice del nervo femorale. Dal punto di vista clinico essa è caratterizzata dalla presenza di dolore, generalmente continuo, talvolta urente, che si presenta alla radice della coscia e si irradia caudalmente fino ad arrivare a volte al ginocchio. L'esame obiettivo evidenzierà atrofia dei muscoli quadricipiti, dei flessori e abduttori dell'anca ed infine riduzione o perdita del riflesso rotuleo. Se si associa anche perdita della sensibilità significa che coesiste una neuropatia sensoriale periferica.

La mononeuropatia, meno frequente della polineuropatia simmetrica distale, si manifesta soprattutto a carico del terzo paio di nervi cranici e quindi si evidenzia

con dolore alle orbite e diplopia. A volte possono essere interessati il quarto, sesto e settimo paio di nervi cranici con sintomatologia correlata.

La poliradiculopatia diabetica è caratterizzata da dolore acuto al torace o all'addome, cioè nel territorio di distribuzione dei nervi interessati e inoltre si può associare perdita della sensibilità a chiazze. Tale condizione tende a risolversi dopo alcuni mesi.

La neuropatia autonoma è ad insorgenza graduale e a progressione lenta, interessa maggiormente i sistemi cardiovascolare, gastrointestinale, urinario, genitale, sudoriparo e metabolico. Le alterazioni cardiovascolari possono essere ipotensione ortostatica, tachicardia a riposo e infarto indolore.

L'ipotensione ortostatica è aggravata dalla concomitante somministrazione di antidepressivi triciclici e diuretici e il sintomo principale è la vertigine. Le alterazioni del sistema gastrointestinale sono gastroparesi e variazioni dell'alvo. La prima è caratterizzata da ridotta motilità esofagea con disfagia, ritardato svuotamento gastrico e vomito. Nei casi severi ciò porta a disidratazione, alterazione dei livelli glicemici e perdita di peso. Le alterazioni dell'alvo includono diarrea e talvolta stipsi. La neuropatia del sistema urinario determina alterazione della funzione vescicale. I soggetti con tale disfunzione presentano ritenzione urinaria e/o incontinenza con particolare predisposizione ad infezioni ricorrenti (Tesfaye, 2006). Le alterazioni del sistema sudoriparo inducono iperidrosi delle estremità superiori e anidrosi di quelle inferiori. L'anidrosi favorisce la secchezza cutanea e le fessurazioni aumentando il rischio di ulcere cutanee (Faglia & Beck-Peccoz, 2006). Le alterazioni metaboliche sono: ritardato recupero dall'ipoglicemia e assenza dei sintomi di allarme dell'ipoglicemia.

Infine la neuropatia del sistema genitale può generare disfunzione erettile, eiaculazione retrograda e disfunzione delle vescicole seminali (La Vignera et al, 2011a).

VESCICOLE SEMINALI

Le vescicole seminali assieme alla regione prostatica ed epididimaria costituiscono il complesso anatomico-funzionale denominato : ghiandole sessuali accessorie maschili.

Sul piano anatomico presentano una forma a cono e mediante il loro apice si uniscono alle ampolle deferenziali dando origine al condotto eiaculatore attraverso il quale comunicano con l'uretra. Le dimensioni variano fra gli individui e generalmente la lunghezza misura 40-60 mm, la larghezza 15-20 mm e il diametro anteroposteriore (DAP) 7-14 mm. La capacità varia da 3 a 6 ml.

Anteriormente, le vescicole seminali sono applicate sulla parte posteriore della base della vescica, posteriormente sono in rapporto con la faccia anteriore dell'intestino retto. Soltanto la faccia posteriore del fondo è rivestita dal peritoneo. A causa del rapporto stretto con il retto, risultano palpabili mediante esplorazione rettale. Medialmente sono costeggiate dal tratto terminale del rispettivo canale deferente il quale si dilata nell'ampolla; i due organi sono strettamente collegati da tessuto fibroso denso. Lateralmente sono in rapporto con il plesso venoso prostatico.

Ogni vescicola seminale è costituita da un dotto di calibro irregolare fornito di numerosi diverticoli ampollari o tubulari di lunghezza variabile. Il dotto presenta un'estremità a fondo cieco e l'altra in comunicazione con l'ampolla deferente. Le anse formate dal dotto e i diverticoli, anch'essi tortuosi, sono strettamente addossati l'uno all'altro con l'interposizione di sepimenti connettivali che si addensano alla superficie dell'organo per costituire la tonaca avventizia.

La parete delle vescicole seminali è formata dalle tonache : mucosa, muscolare e avventizia.

La tonaca mucosa è formata da un epitelio di rivestimento cilindrico semplice con cellule basali intercalate e da una lamina propria. Le cellule cilindriche, dette principali o secretorie contengono delle vescicole secretorie che si spostano sempre più verso il polo apicale fino ad aprirsi sulla superficie cellulare e riversare il loro contenuto nel lume. Le cellule basali sono poste profondamente fra le cellule cilindriche. Svolgono funzione di rimpiazzo e/o di sostegno per le cellule cilindriche principali. La lamina propria, sottile, contiene numerose fibre elastiche e alcune fibrocellule muscolari isolate.

La tonaca muscolare, discretamente spessa, è formata da fascetti di fibrocellule muscolari lisce disposti in uno strato interno circolare e uno esterno longitudinale. E' fornita di un ricco plesso di fibre nervose (che derivano dal plesso ipogastrico) con gruppetti di cellule gangliari intercalate.

La tonaca avventizia è rappresentata da uno strato periferico di tessuto connettivo, ricco di fibre elastiche; invia sottili setole nell'intero dell'organo.

Le vescicole seminali sono responsabili della produzione di circa il 60% del plasma seminale ed esso è secreto dalle cellule dell'epitelio di rivestimento cilindrico semplice della tonaca mucosa. E' ricco di proteine, fruttosio, sorbitolo, acido citrico e prostaglandine ed è riversato, durante l'eiaculazione, nei dotti eiaculatori e di qui nell'uretra, dove si mescola alla componente prostatica del liquido seminale (Balboni et al., 2000).

Il meccanismo dell'eiaculazione, a livello delle vescicole seminali, prevede una prima contrazione delle stesse che spinge il secreto verso i dotti eiaculatori, una successiva fase in cui gli spermatozoi, accumulati nei dotti deferenti e nella coda dell'epididimo, vengono emessi attraverso le ampolle deferenziali ed una terza fase

dove una nuova contrazione delle vescicole seminali spinge ancora avanti il liquido che si è arricchito degli spermatozoi arrivati attraverso i deferenti (Schena & Selvaggi, 2008).

La morfologia delle vescicole seminali è valutabile mediante esame ecografico prostatico-vescicolare trans-rettale (TRUS). L'ecostruttura appare finemente disomogenea e lievemente ipoecogena rispetto alla ghiandola prostatica.

La TRUS viene generalmente impiegata nella pratica clinica per la valutazione morfologica delle ghiandole sessuali accessorie in pazienti con alterazione infiammatoria di tali strutture, quindi esse comprendono diverse entità nosologiche caratterizzate appunto dal riscontro di segni ecografici riconducibili a infiammazione di una o più strutture deputate al transito e alla maturazione del gamete maschile.

Esistono criteri standardizzati per valutare le modificazioni dell'imaging ecografico a carico delle vescicole seminali suddivisi in criteri convenzionali e non-convenzionali.

Sono considerati criteri convenzionali : **1.** spessore (DAP) aumentato, mono o bilateralmente (>14 mm); **2.** asimmetria ($>2,5$ mm) tra la vescichetta di destra e sinistra, anche se con DAP normale (7-14 mm); **3.** DAP ridotto, mono o bilaterale (<7 mm); **4.** epitelio ghiandolare ispessito o con calcificazione/i; **5.** presenza di aree policicliche separate da setti iperecogeni (aspetto a nido d'ape) in una o entrambe le vescicole (Vicari, 1999).

Sono considerati criteri non convenzionali: **1.** rapporto fondo-corpo ghiandolare (F/C) inferiore ad 1 o superiore a 2,5; **2.** DAP del corpo immutato dopo l'eiaculazione (La Vignera et al., 2011b).

SCOPO DELLO STUDIO

Non esistono in letteratura dati relativi alla caratterizzazione ecografica della regione vescicolare nei pazienti diabetici. Poiché tale categoria di pazienti, va incontro, per i meccanismi prima illustrati, ad alterazioni spermatiche ed in particolare a modificazioni reologiche seminali (es. riduzione di volume dell'eiaculato), queste ultime, abitualmente attribuite a danno neuropatico manifesto a carico di vescica e uretra (Ali et al, 1993).

Abbiamo valutato l'ipotesi di una differente caratterizzazione ecografica delle vescicole seminali di pazienti infertili con DM tipo 2 affetti da neuropatia diabetica (in assenza di concomitante patologia andrologica potenzialmente responsabile di alterazione spermatica mediante meccanismi di tipo pre, iuxta e post testicolare), ponendo a confronto tale categoria di pazienti con quella di pazienti non diabetici con quadro di infertilità idiopatica e pazienti infertili con diagnosi di infiammazione/infezione delle ghiandole sessuali accessorie maschili (MAGI) modello clinico, quest'ultimo, maggiormente caratterizzato in letteratura relativamente alle alterazioni ultrasonografiche di tali strutture anatomiche.

PAZIENTI E METODI

Valutazione condotta su 90 pazienti. Suddivisi in 3 gruppi.

- a) **Gruppo controllo:** 30 uomini non diabetici con quadro di infertilità idiopatica (mancato concepimento >1 anno) (nessuna causa nota di infertilità), con età media=35±4 anni (range=28-37);
- b) **Pazienti con MAGI:** 30 uomini, non diabetici, con quadro di infertilità (mancato concepimento >1 anno) e comprovata condizione clinico-laboratoristica di flogosi a carico delle ghiandole sessuali accessorie (prostata, vescicole seminali ed epididimi), secondo criteri pubblicati in precedenza (La Vignera et al, 2011c), con età media=31±6 anni (range=27-36);
- c) **Pazienti con diabete mellito tipo 2 :** 30 uomini, con quadro di infertilità (mancato concepimento >1 anno) affetti da diabete mellito di tipo 2 (Criteri ADA, 2010), con età media=34±8 anni (range=28-36 anni), durata media di malattia= 9±3 anni (range=7-12 anni) valore medio di indice di massa corporea =28±4 kg/m² (range=26-30 kg/m²), valori medi di emoglobina glicata=7,6±1,2% (range=7,2-8,1%). Danno neuropatico secondo scala di Dyck (Dyck, 1988; Thomas, 1997; Sinnreich et al, 2005) corrispondente a stadio 2 (neuropatia sintomatica) in tutti i pazienti (Tabella1).

Tutti pazienti arruolati vennero sottoposti al seguente iter di diagnostica andrologica, finalizzato ad escludere altre co-morbidità andrologiche (es. ipogonadismo primitivo e/o secondario, varicocele, alterazioni cromosomiche, neoplasie testicolari, ostruzioni complete dei dotti eiaculatori).

1. **esame obiettivo andrologico** (status di androgenizzazione : distribuzione pilifera generale e pubica, presenza/assenza di ginecomastia, tipologia di distribuzione dell'adipe, trofismo masse muscolari, sfigmia polsi arteriosi in regione inguinale, plicature e colorito della regione scrotale, apprezzamento palpatorio della presenza anatomica dei vasi deferenti, rilevazione volume, superficie e consistenza testicoli, volume, superficie e consistenza tratti epididimari, esame della regione peniena : rilevazione placche asta, sbocco meato uretrale, eventuali discromie del glande, esame regione prostatica e vescicolare mediante esplorazione digito ano-rettale : sede, volume, consistenza, eventuali asimmetrie palpatorie, modularità, apprezzamento congestione vescicolare);
2. **diagnostica seminologica** mediante esame standard del liquido seminale eseguito secondo le attuali norme dettate dal manuale di seminologia dell'organizzazione mondiale della Sanità (Manuale WHO, V Ed. 2010);
3. **diagnostica ormonale** in chemiluminescenza per la determinazione dei seguenti parametri : FSH, LH, testosterone totale, estradiolo, prolattina;
4. **diagnostica microbiologica** effettuata mediante esame colturale e batterioscopico delle secrezioni prostatiche ottenute mediante massaggio finalizzata alla ricerca di

germi gram negativi e gram positivi, micoplasmi, clamidia, miceti, trichomonas;

5. **diagnostica vascolare** effettuata mediante eco color doppler venoso del plesso pampiniforme;
6. **diagnostica genetica** mediante analisi della mappa cromosomica e ricerca di microdelezioni del cromosoma Y riservata ai casi di severa oligospermia (concentrazioni spermatiche <5 milioni/ml);

Diagnostica ecografica

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a valutazione ultrasonografica della regione prostatico-vescicolare dopo 1 giorno di astinenza da rapporti sessuali, prima e 1 ora dopo atto eiaculatorio, impiegando una sonda biplanare-biconvex transrettale da 7,5 MHz (Esaote GPX Megas, Genova, Italia), tutti gli esami sono stati condotti dallo stesso operatore.

I parametri esaminati sono stati: **1.** spessore interparietale (DAP) del corpo vescicolare; **2.** spessore interparietale del fondo vescicolare; **3.** spessore parietale vescicolare; **4.** numero di eventuali aree policicliche endoluminali. Con questi dati è stato possibile calcolare altri parametri: **5.** rapporto spessore interparietale fondo/corpo ghiandolare; **6.** differenza di spessore interparietale intervescicolare; **7.** differenza di spessore interparietale (al corpo) prima e dopo atto eiaculatorio (Figura 1).

L'operatore ha ripetuto 2 volte la misurazione di tutti questi parametri e il valore medio è stato utilizzato per l'analisi dei dati. Il protocollo è stato approvato

dal comitato etico istituzionale e, da ogni paziente, è stato ottenuto un consenso informato scritto.

Analisi statistica

I risultati sono stati riportati come $\text{media} \pm \text{SEM}$. I dati sono stati analizzati mediante l'analisi della varianza ad una via (ANOVA) seguito dal test di confronto multiplo di Duncan. L'analisi statistica è stata elaborata usando il software SPSS 9.0 per Windows. Un valore di p inferiore a 0,05 è stato accettato come statisticamente significativo.

RISULTATI

Il gruppo di controllo ed i pazienti infertili, con MAGI o DM, mostrarono età media e indice di massa corporea non significativamente differenti sul piano statistico.

- ***Primo e secondo parametro*** : *spessore interparietale del corpo e del fondo vescicolare*

I pazienti con MAGI e DM mostrarono valori di spessore interparietale in corrispondenza del corpo e del fondo vescicolare significativamente maggiori rispetto al gruppo controllo ($p < 0.05$).

- ***Terzo parametro*** : *spessore parietale vescicolare*

Lo spessore parietale vescicolare risultò significativamente più alto nei pazienti con MAGI ($p < 0.05$) rispetto ai controlli ed ai pazienti con DM.

- ***Quarto parametro*** : *numero di eventuali aree policicliche endoluminali*

I pazienti con MAGI mostrarono un numero di aree policicliche endoluminali significativamente maggiore rispetto ai controlli ed ai pazienti con DM ($p < 0.05$).

- ***Quinto parametro*** : *rapporto spessore interparietale fondo/corpo ghiandolare;*

I pazienti con DM mostrarono un rapporto tra spessore interparietale rilevato al fondo e spessore interparietale rilevato al corpo significativamente più alto paragonato ai controlli ed al gruppo di pazienti con MAGI ($p < 0.05$).

- ***Sesto parametro*** : *differenza di spessore interparietale intervescicolare;*

Lo differenza di spessore interparietale tra le due vescicole seminali risulta' significativamente piu' alto nei pazienti con MAGI ($p<0.05$) rispetto i controlli ed i pazienti con DM. Tale parametro, risulta' significativamente più alto nei pazienti con DM paragonati ai controlli ($p<0.05$).

- *Settimo parametro : differenza di spessore interparietale (al corpo) prima e dopo atto eiaculatorio.*

Infine, il gruppo controllo (1.06 ± 0.08 mm) e i pazienti con MAGI (1.23 ± 0.14 mm) mostrarono una differenza pre- e post-eiaculatoria dello spessore interparietale del corpo vescicolare significativamente maggiore rispetto i pazienti con DM, (0.13 ± 0.06 mm) ($p<0.05$).

I risultati sono riportati nelle figure 2 e 3.

DISCUSSIONE

In questi ultimi anni, il nostro gruppo ha contribuito a codificare le caratteristiche ecografiche delle vescicole seminali dei pazienti affetti da alterazioni infiammatorie/infettive che coinvolgono il tratto anatomico escretorio post testicolare, evidenziando prima cinque e in seguito altri due criteri ecografici che aiutano a differenziare questi pazienti dal gruppo di controllo (Vicari, 1999; La Vignera et al., 2011b).

Il presente studio riporta i risultati della valutazione ultrasonografica della regione vescicolare in pazienti infertili con neuropatia diabetica.

I dati ricavati consentono di ipotizzare che le vescicole seminali di tali pazienti mostrino caratteristiche ultrasonografiche del tutto peculiari che le differenziano dagli altri gruppi di pazienti infertili esaminati (infertilità idiopatica e flogosi delle ghiandole sessuali).

Il primo aspetto riguarda l'apparente perdita della caratteristica morfologia claviforme a causa dell'aumentato rapporto tra lo spessore interparietale rilevato al fondo ed al corpo ghiandolare.

Un secondo aspetto riguarda l'asimmetria dello spessore interparietale intervescicolare comunque significativamente inferiore rispetto a quella riscontrata nei pazienti con MAGI. Osservazione che suggerisce la presenza di una componente infiammatoria nelle vescicole seminali dei pazienti con DM, sebbene di grado inferiore rispetto a quella dei pazienti con MAGI. La presenza di un minore coinvolgimento infiammatorio delle vescicole seminali viene ulteriormente confermato dal ridotto numero di aree policicliche (aspetto a nido d'ape : classico

segno ecografico infiammatorio) osservato nei pazienti con DM rispetto ai pazienti con MAGI.

Infine, nei pazienti con neuropatia diabetica viene rilevata una differenza di spessore interparietale nell'immediata fase post eiaculatoria significativamente inferiore agli altri gruppi, suggerendo una dinamica di svuotamento endoluminale alterata e differente.

Infatti, sebbene questi pazienti mostrino uno spessore interparietale in fase pre-eiaculatoria significativamente aumentato, simile ai pazienti con MAGI, le vescicole seminali dei diabetici sono incapaci di contrarsi adeguatamente dopo l'eiaculazione.

Le alterazioni ecografiche delle vescicole seminali riscontrate potrebbero essere correlate ad alterazioni organiche e funzionali delle stesse. Nei pazienti diabetici infertili, infatti, si realizza una sovrapposizione di aspetti anatomicopatologici simili a quelli riscontrati nella flogosi cronica vescicolare. Questi includono la presenza di lesioni infiammatorie parietali causate dalla stasi del liquido vescicolare, lesioni distruttive e riparative delle fibre muscolari ed elastiche e delle cellule epiteliali. Le cellule principali colonnari perdono le loro ciglia o vanno incontro a metaplasia favorendo la stasi e le cellule basali aumentano la produzione di proteine coinvolte nella formazione di coagulo.

Un altro possibile meccanismo è rappresentato dalle alterazioni anatomicopatologiche vascolari e neurologiche della parete muscolare delle vescicole dovute ad un alterato rapporto tra le fibre elastiche e collagene con una conseguente alterazione della fase di svuotamento ampullo-deferente-vescicolare.

L'alterazione funzionale della neurotrasmissione ampollo-deferento-vescicolare potrebbe contribuire anche all'anormale funzione delle vescicole seminali.

Nei pazienti diabetici sembra realizzarsi una neurotrasmissione inefficiente o a causa dell'alterata trasmissione purinergica (ATP-mediata) o a causa di un'alterata clearance sinaptica dell'ATP paragonata alla clearance efficiente di altri neurotrasmettitori, come l'acetilcolina e l'acetilcolinesterasi. L'ATP e l'ossido nitrico (NO) sono co-trasmettitori che interagiscono con i neurotrasmettitori (acetilcolina, norepinefrina e dopamina). L'ATP e la norepinefrina sono stati descritti nelle cellule post-gangliari dei vasi deferenti (Westfall et al., 2003; Burnstock, 2009) ed il loro rilascio è sincrono.

La mancata modificazione dello spessore interparietale vescicolare nell'immediata fase post-eiaculatoria nei pazienti con DM è simile alla condizione riscontrata nei pazienti con neuropatia alcolica e/o disvitaminosi. Abbiamo anche riportato che questa forma di atonia funzionale a carico delle vescicole seminali è associata ad un aumento della concentrazione di leucociti nel liquido seminale. Aspetto che potrebbe favorire l'amplificazione della risposta infiammatoria a carico del tratto prostatico-ampollo-vescicolare in tali pazienti (Vicari et al., 2008).

In base alle nostre conoscenze, questo è il primo studio che indaga le caratteristiche ecografiche delle vescicole seminali dei pazienti infertili con neuropatia diabetica in assenza di comorbidità andrologiche. La carenza di questo tipo di studi ha una rilevanza maggiore alla luce dell'aumentato interesse sull'impatto negativo del DM sui parametri spermatici e, conseguentemente, sulla funzione riproduttiva maschile (Bener et al., 2009). I risultati del presente studio

suggeriscono che la neuropatia diabetica possa rappresentare una ulteriore causa di infertilità maschile agendo con meccanismo disfunzionale di tipo post-testicolare. I risultati ottenuti suggeriscono inoltre che l'ecografia prostatico-vescicolare transrettale possa concretamente contribuire alla caratterizzazione della situazione anatomica e funzionale delle vescicole seminali nel paziente diabetico consentendo di chiarire sia il loro coinvolgimento nel processo neuropatico che il ruolo svolto sulla fertilità maschile (Smajlovic, 2007; La Vignera et al., 2011a).

La durata del diabete, o altre variabili cliniche come il controllo glicemico possono influire sui risultati ecografici. In questo studio, i pazienti diabetici esaminati avevano tali caratteristiche molto omogenee per cui non è stata condotta nessuna correlazione. Un altro interessante aspetto è l'età giovane dei pazienti e la breve durata della malattia; tali caratteristiche appaiono in contrasto con il quadro tipico di neuropatia diabetica nei pazienti più anziani e con una più lunga durata della malattia (Vinik & Mehrabyan, 2004), suggerendo che le alterazioni ecografiche delle vescicole seminali potrebbero rappresentare un segnale precoce di neuropatia diabetica.

In conclusione, questo studio ha mostrato che i pazienti infertili affetti da neuropatia diabetica presentano alterazioni morfo-strutturali delle vescicole seminali osservabili con esame ecografico compatibili con la presenza di atonia funzionale.

BIBLIOGRAFIA

1. Agbaje IM, Rogers DA, McVicar CM, et al. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum Reprod* 22:1981-7, 2007.
2. Ali ST, Shaikh RN, Siddiqi NA, Siddiqi PQ. Semen analysis in insulin-dependent/non-insulin-dependent diabetic men with/without neuropathy. *Arch Androl.* 1993;30(1):47-54.
3. Amaral S, Oliveira P.J, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev* 4:46-54, 2008.
4. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2010, 33 supp 1, S62.
5. Baccetti B, La Marca A, Piomboni P, et al. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum Reprod* 17:2673-7, 2002.
6. Balboni G C, Bastianni A, Brizzi E, Castorina S, Comparini L, Donato R F, Filogamo G, Fusaroli P, Giordano Lanza G, Grossi CE, Manzoli FA, Marinozzi G, Miani A, Mitolo V, Motta P, Nesci E, Orlandini GE, Passaponti A, Pizzini G, Reale E, Renda E, Ridola C, Ruggeri A, Santoro A, Tedde G, Zaccheo D. *Anatomia Umana* 2. Edi-Ermes, Milano, 2000, 3 edizione.
7. Bener A, Al-Ansari AA, Zirie M, Al-Hamaq AO. Is male fertility associated with type 2 diabetes mellitus? *Int Urol Nephrol* 41:777-84, 2009.
8. Burnstock G. Purines and sensory nerves. *Handb Exp Pharmacol* 194:333-92, 2009.
9. Chandel A, Dhindsa S, Topiwala S, Chauduri A, Dandona P. Testosterone concentration in young patients with diabetes. *Diabetes Care* 31:2013-7, 2008.
10. Dyck PJ. Detection, characterization, and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve.* 1988;11:21-32.

11. Emdin M. Il sistema nervoso autonomo nel diabete. *Ital Heart J* 2 (Suppl. 8):857-64, 2001.
12. Faglia G, Beck-Peccoz P. *Malattie del Sistema Endocrino e del Metabolismo*. McGraw-Hill, Milano, 2006, 4 edizione.
13. Gatto A, Romaniello L. Trattamento delle neuropatie periferiche: confronto tra acido tioctico e vitamine del gruppo B. *Farmaci* 32 (Suppl. 3):1-6, 2008.
14. Guest CB, Park MJ, Johnson DR, Freund GG. The implication of pro-inflammatory cytokines in type 2 diabetes. *Front Biosci* 13:5187-94, 2008.
15. Kalyani RR, Dobs AS. Androgen deficiency, diabetes, and the metabolic syndrome in men. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 14:226-34, 2007.
16. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters: a brief review. *J Androl*, 2011 Apr 7 [Epub ahead of print].
17. La Vignera S, Calogero AE, Condorelli RA, Vicari LO, Catanuso M, D'Agata R, Vicari E. Ultrasonographic evaluation of patients with male accessory gland infection. *Andrologia*. 2011 Sep 15. [Epub ahead of print]
18. La Vignera S, Vicari E, Condorelli RA, D'Agata R, Calogero AE. Male accessory gland infection and sperm parameters (review). *Int J Androl*. 2011 Oct;34(5 Pt 2):e330-47.
19. Patterson JE, Andriole VT. Bacterial urinary tract infections in diabetes. *Infect Dis Clin North Am* 11:735-50, 1997.
20. Schena FP, Selvaggi FP. *Malattie dei Reni e delle Vie Urinarie*. McGraw-Hill, Milano, 2008, quarta edizione.
21. Sinnreich M, Taylor BV, Dyck PJ. Diabetic neuropathies. Classification, clinical features, and pathophysiological basis. *Neurologist*. 2005 Mar;11(2):63-79.

22. Smajlovic F. Role of transrectal ultrasonography in evaluating azoospermia causes. *Med Arh* 61:37-9, 2007.
23. Tavakoli M, Mojaddidi M, Fadavi H, Malik RA. Pathophysiology and treatment of painful diabetic neuropathy. *Current Pain and Headache Reports* 12:192-7, 2008.
24. Tesfaye S. Neuropathy in diabetes. *Medicine* 34 (Suppl. 3):91-4, 2006.
25. Thomas PK. Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes*. 1997;46 Suppl 2:S54-7.
26. Vicari E, Calogero AE, Valenti D, Condorelli R, La Vignera S. Relationship between degree of neuropathy and post-ejaculatory seminal vesicles voiding and seminal leukocyte concentrations in diabetic patients. *J Endocrinol Invest* 31(Suppl. 10):17, 2008.
27. Vicari E. Seminal leukocyte concentration and related specific reactive oxygen species production in patients with male accessory gland infections. *Hum Reprod* 14:2025-30, 1999.
28. Vinik AI, Mehrabyan A. Diabetic neuropathies. *Med Clin North Am* 88:947-99, 2004.
29. Westfall DP, Todorov LD, Mihaylova-Todorova ST. ATP as a cotransmitter in sympathetic nerves and its inactivation by releasable enzymes. *J Pharmacol Exp Ther* 303:439-44, 2002.
30. WHO laboratory manual for the Examination and processing of Human semen. Fifth Edition. 2010

Tabella 1. Stadiazione della neuropatia diabetica impiegata in questo studio.

Stadio	Neuropatia	Anomalie
0	Assente	< 2 tra : EO, EF, TC e TQS; no S
1	Asintomatica	≥ 2 tra : EO, EF, TC e TQS ma no S
2	Sintomatica	≥ 1 tra : EO, EF, TC e TQS e anche S (lievi)
3	Disabilitante	≥ 1 tra : EO, EF, TC e TQS e anche S (gravi)

Legenda :

- Sintomi (S)
- Esame obiettivo (EO)
- Elettrofisiologia (EF)
- Test quantitativi della sensibilità (TQS)
- Test cardiovascolari (TC)

LEGENDA DELLE FIGURE

Figura 1. Parametri ecografici oggetto di valutazione

Figura 2. Valori medi di spessore interparietale vescicolare rilevati in corrispondenza del corpo e del fondo ghiandolare e rapporto tra spessore interparietale rilevato al fondo ed al corpo ghiandolare nei tre gruppi.

Figura 3. Valori medi di spessore parietale, differenza di spessore interparietale intervescicolare e numero di aree policicliche endoluminali rilevate nei tre gruppi.





