



SOCIETÀ ITALIANA DI ANDROLOGIA  
Sezione Marche, Emilia-Romagna e S. Marino



# **XXI Congresso annuale della sezione MERS “L'Andrologia Sociale”**

Ferrara 22 settembre 2017

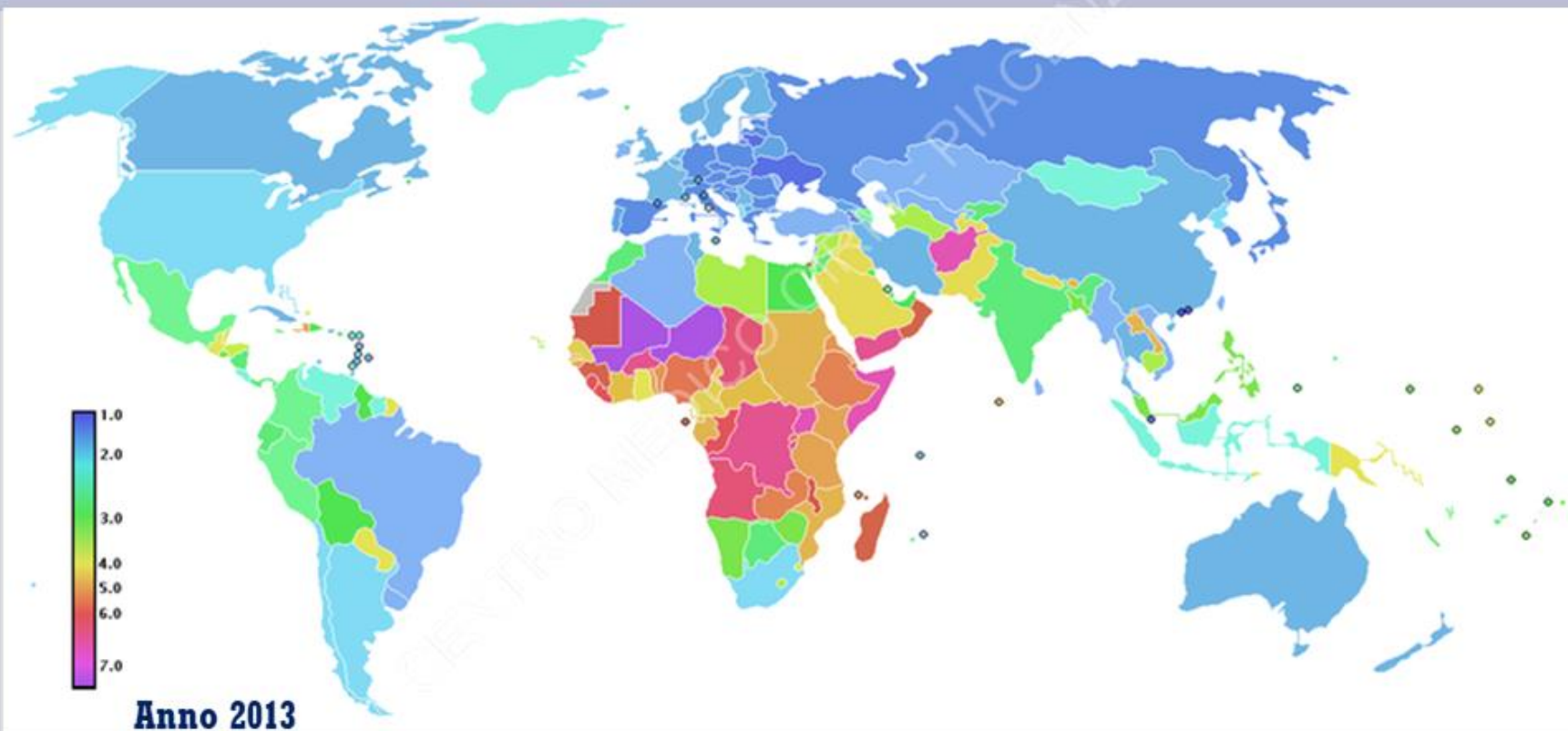
## **Nuove frontiere nel trattamento dell' infertilità idiopatica**

**Carlo Maretti**

Centro Medico CIRM - Piacenza



# TASSO DI NATALITA' NEL MONDO



Sotto il profilo demografico l'Italia si conferma uno dei paesi con il più basso tasso di natalità al mondo; nel 2011 il numero medio di nascite per donna è stato stimato a 1,42 mentre nel 2013 è stato di 1,39 e nel 2016 di 1,34 ma perché sia possibile un ricambio generazionale, il tasso medio di nascite dovrebbe essere di 2,1. La combinazione tra la persistente denatalità e il progressivo aumento della longevità conduce a stimare che nel 2050, la popolazione inattiva sarà pari all'84% di quella attiva.

# INFERTILITA' MASCHILE

1930 - 2010

CONCENTRAZIONE SPERMATICA MEDIA

↓ da 120 mil./ml a 50 mil./ml

OLIGOZOOSPERMICI (< 20 mil./ml) ↑ dal 5% al 20%

S. Irvine

- ❖ Negli ultimi 20 anni, vari studi epidemiologici italiani, su un campione di circa 100 mila giovani (età < 20 anni), hanno rilevato un 40% circa di patologie andrologiche in grado di determinare infertilità.
- ❖ Con una nuzialità annua in Italia di circa 600.000 coppie, si può stimare che ogni anno in Italia circa il 10% abbia difficoltà ad avere figli.

# INFERTILITA' DI COPPIA

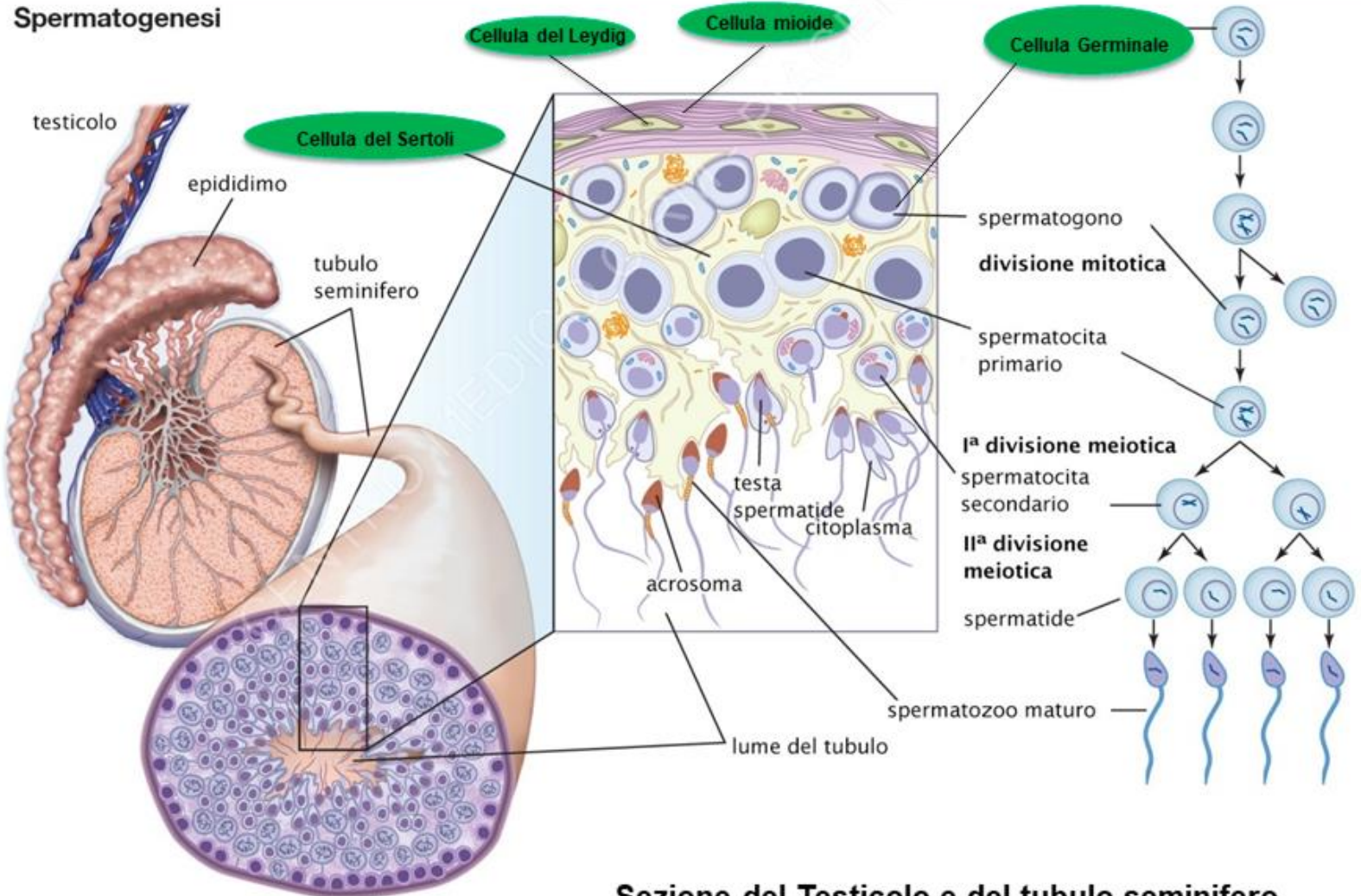
## Cause di infertilità di coppia

Cause di infertilità	
<b>Fattore maschile</b>	<b>30%</b>
Cause pre-testicolari	3%
Cause testicolari	22,5%
Cause post-testicolari	4,5%
<b>Fattore femminile</b>	<b>35%</b>
Fattore tubarico	13
Infertilità endocrino ovulatoria	5
Endometriosi	6
Ridotta riserva ovarica	4,5
Fattore multiplo femminile	5,5
Poliabortività	1
<b>Fattore misto</b> (sia maschile sia femminile)	<b>20%</b>
<b>Infertilità idiopatica</b>	<b>15%</b>



# SPERMATOGENESI

## Spermatogenesi



Sezione del Testicolo e del tubulo seminifero

# LE CELLULE DELLA GONADE MASCHILE

## Funzione della cellula Sertoliana

- Sostegno meccanico e trofico delle cellule spermatogenetiche formando la barriera emato-testicolare
- **Fattori di crescita**
- Proteina legante gli androgeni ABP (androgen binding protein)
- Inibina B (marker di funzione sertoliana)
- sintesi del recettore per gli androgeni che rende le cellule più responsive agli androgeni

## Funzione della cellula di Leydig

- Testosterone, Androstenedione, Deidroepiandrosterone (DHEA) fondamentali per la crescita e lo sviluppo delle cellule germinali
- INSL3 (Insulin Like factor-3) (marker di funzione leydigiana)

## Funzione della cellula mioide

- Circondano i tubuli seminiferi e forniscono supporto meccanico

# FATTORI DI CRESCITA DI ORIGINE TESTICOLARE

I **fattori di crescita testicolari (•)** controllano le funzioni luminali dell'epididimo prossimale attraverso l'espressione genetica di **specifiche proteine (\*)**. Le cellule del Sertoli sono i maggiori tipi cellulari responsabili della produzione di molti fattori di crescita isolati nei testicoli

(\*) **Proencefalina**

(\*) **CREG gene** (Cystatin-Related Epididymal Specific)

(\*) **GPX** (Glutathione Peroxidase)

(\*) **GGT** (G-Glutamyl Transpeptidase)

(\*) **A-raf**

(\*) **PEA 3** (Polyomavirus Enhancer Activator 3)

(\*) **ADAM 7** (A Disintegrin And Metalloproteinase)

(•) **IGF-I-II** (Insulin-like Growth Factor)

(•) **EGF** (Epidermal Growth Factor)

(•) **TGF- $\alpha$ - $\beta$**  (Transforming Growth Factor)

(•) **FGFs** (Fibroblast Growth Factors)

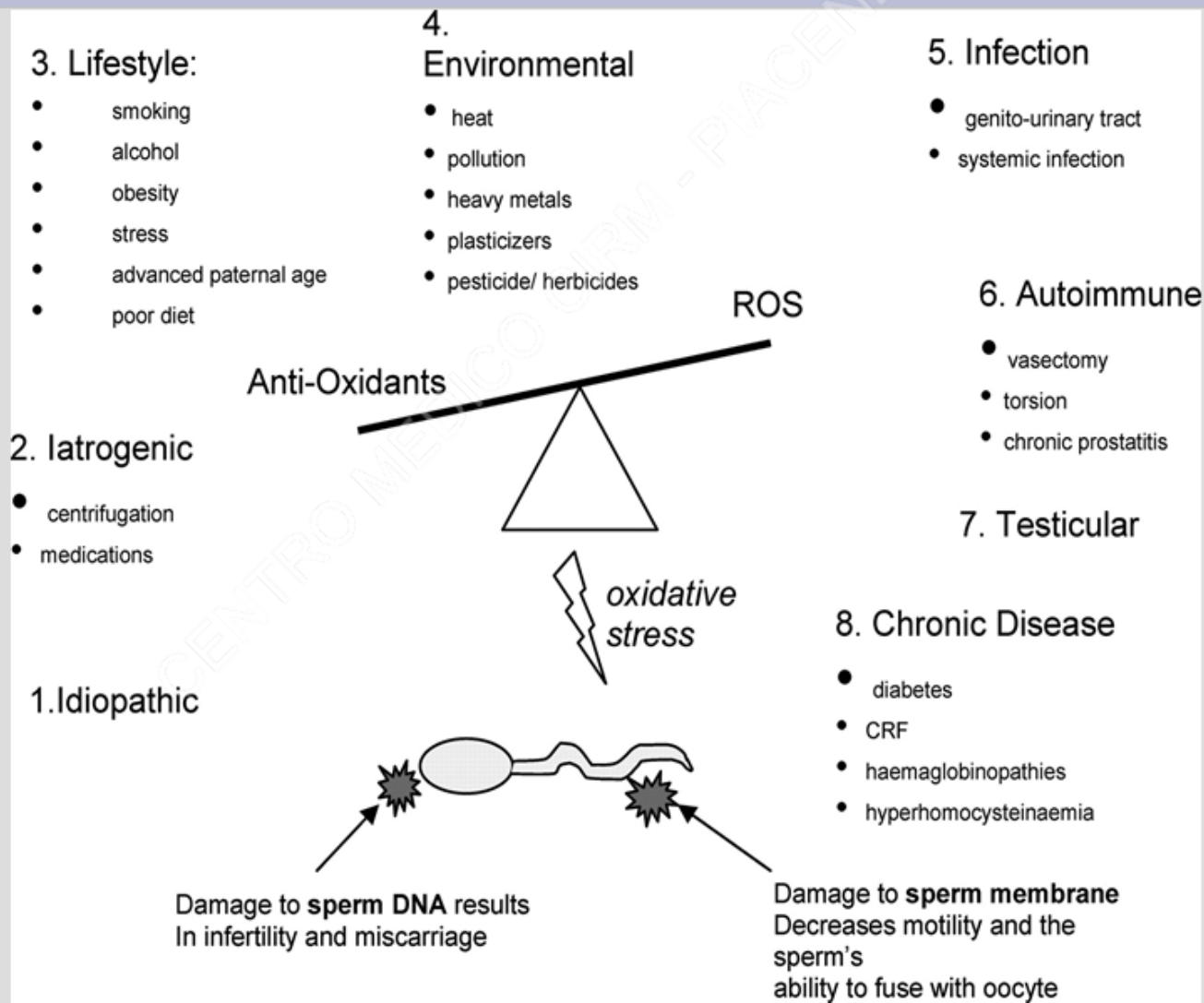
(•) **NGF** (Nerve Growth Factor)

(•) **IL-1** (Interleukin)

(•) **SGF** (Seminiferous Growth Factor)

(•) **SCGF** (Sertoli Cell Growth Factor)

## PATOGENESI DELL' INFERTILITA' MASCHILE





# PATOGENESI DELL' INFERTILITA' MASCHILE

Spermatozoo

Transito epididimo

Capacità fecondante

L'accumulo di ROS, a causa dello stress ossidativo, è il risultato di uno squilibrio tra i sistemi di produzione e di eliminazione dei radicali. Oltre alle fonti esterne, i ROS sono prodotti all'interno delle cellule in diversi tipi di tessuti.

La maggior parte delle specie reattive dell'ossigeno sono prodotte dai mitocondri: la catena di trasporto elettronico mitocondriale è sicuramente la sorgente produttiva di ROS più importante.

Gli effetti dell'accumulo di ROS sono principalmente tre:

- Perossidazione lipidica delle membrane
- Alterazioni ossidative a carico delle proteine
- Danni al Dna

# **RADICALI LIBERI $O_2$ (ROS)**

Lo stress ossidativo causa il declino della concentrazione e della qualità spermatica. (Aitken 1999)

Gli effetti deleteri dei ROS sugli spermatozoi derivano dalla peculiare composizione della membrana spermatozoaria ricca di ac. poli-insaturi. I ROS possono portare alla induzione genetica ma anche alla soppressione genetica.

Il GPX (Glutathione perossidasi) è un'enzima con capacità antiossidanti e la sua espressione genetica, nel tratto genitale maschile, coinvolge varie strutture:

**spermatozoo**

**epididimo**

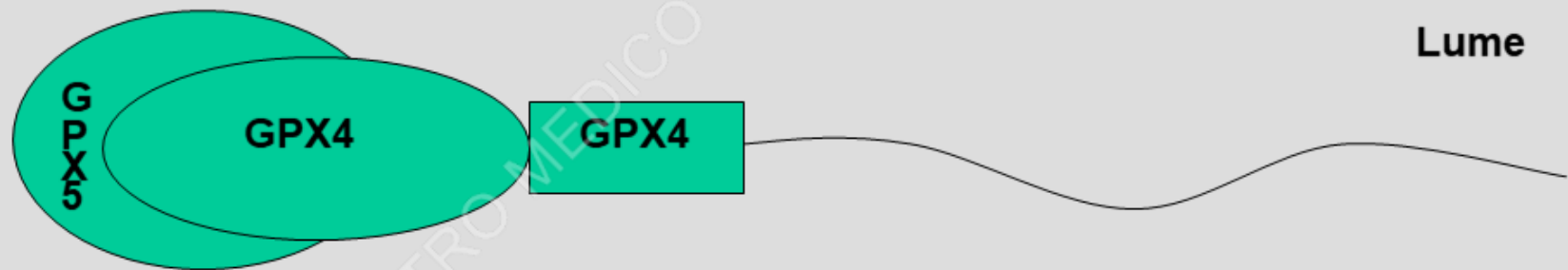
**vasi deferenti**

**vescicole seminali**

(Noblanc A. 2011)

# ESPRESSIONE DEL GPX

(Glutatione perossidasi)



GPX1- GPX3 - GPX4 - GPX5 (Noblanc A. 2011)

# TERAPIE ANTIOSSIDANTI

- Attivano la produzione di fattori essenziali nei processi biochimici cellulari e nella sintesi di alcune proteine che proteggono dal danno ossidativo.
- Proprietà antiossidanti dirette
- Effetto bioenergetico sui mitocondri spermatozoari (stabilizzano la fosforilazione ossidativa)



# NUOVE TERAPIE



**The association of a probiotic with a prebiotic (Florotec, Bracco) to improve the quality/quantity of spermatozoa in infertile patients with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a pilot study.**  
Maretti C. - Cavallini G.

Andrology 2017 Feb 28

<sup>1</sup>Department of Andrology, Centro Medico Cirm (affiliated with GynePro), Piacenza, Italy

<sup>2</sup>Department of Andrology, GynePro Medical Group, Bologna, Italy

**ANDROLOGY**



# MICROBIOTA

Si definisce **microbiota** l'insieme dei microrganismi che "convivono" con l'organismo umano senza danneggiarlo, almeno in condizioni di normale funzionamento del **sistema immunitario**.

## Actinobacteria

*Corynebacterium*  
*Propionibacterium*  
Other Actinobacteria

## Bacteroidetes

## Firmicutes

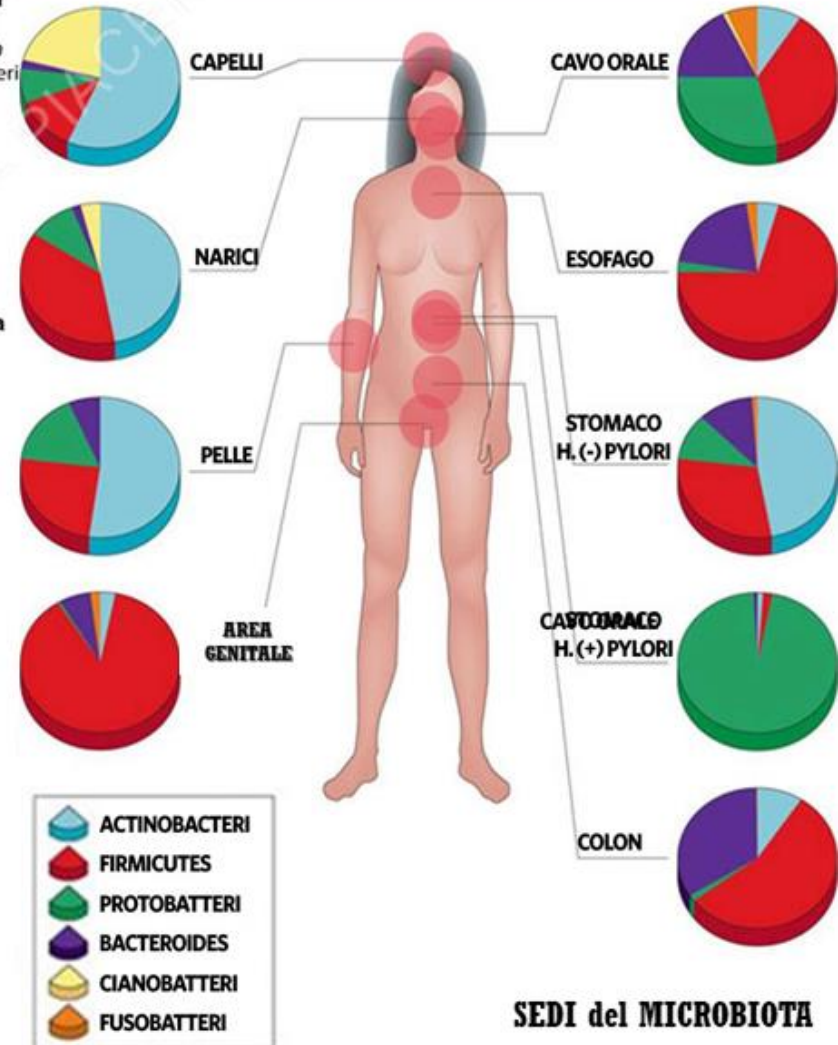
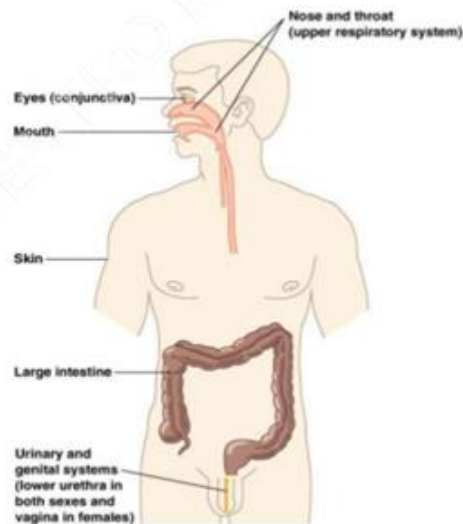
*Lactobacillus*  
*Staphylococcus*  
*Streptococcus*  
Other Firmicutes

## Fusobacteria

## Proteobacteria

## Normal Microbiota and the Host:

- Locations of normal microbiota on and in the human body



**SEDI del MICROBIOTA**

# MICROBIOTA INTESTINALE

## IL MICROBIOTA INTESTINALE

IL MICROBIOTA INTESTINALE E' UN DELICATO EQUILIBRIO TRA SPECIE BENEFICHE E SPECIE DANNOSE

SPECIE POTENZIALMENTE PERICOLOSE

EFFETTO PRO-INFIAMMATOIO

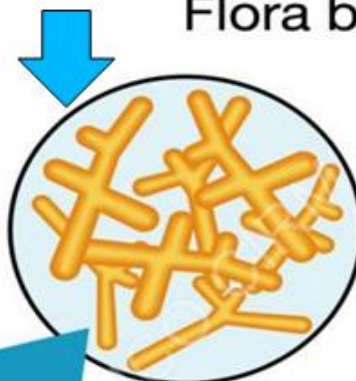
*Bacteroides vulgatus*, *B. theta*  
*Enteropococcus faecalis*  
*E. coli* - enteroadherent / invasive  
*Klebsiella pneumoniae*  
*Fusobacterium varium*  
*Intestinal Helicobacter* species

SPECIE AD AZIONE PROTETTIVA

EFFETTO ANTI-INFIAMMATOIO

*Lactobacillus* sp.  
*Bifidobacterium* sp.  
*Non-pathogenic E. coli*  
*Bacteroides thetaiotaomicron*

## Flora batterica Buona e Cattiva



**BIFIDOBACTERIA**

Vari ceppi aiutano a regolare i livelli di altri batteri nell'intestino, a modulare le risposte immunitarie ai patogeni, a prevenire la formazione di tumori e a produrre vitamine.



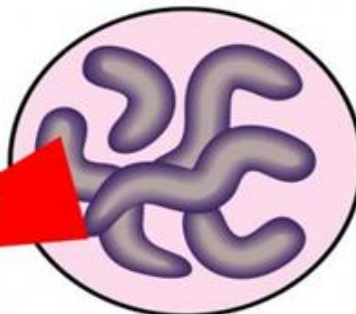
**ESCHERICHIA COLI**

Diversi ceppi abitano l'intestino umano. Sono coinvolti nella produzione di Vit. K2 (essenziale per la coagulazione) e aiutano a mantenere sotto controllo i batteri cattivi. Ma alcuni ceppi possono causare malattia.



**LACTOBACILLI**

Ceppi benefici producono vitamine e sostanze nutritive, aumentano le difese immunitarie e proteggono contro agenti cancerogeni.



**CAMPYLOBACTER**

*C. jejuni* e *C. coli* sono i ceppi più comunemente associati a malattie. L'infezione di solito avviene attraverso l'ingestione di alimenti contaminati.



**ENTEROCOCCUS FAECALIS**

Una causa comune di infezioni post-chirurgiche.



**CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

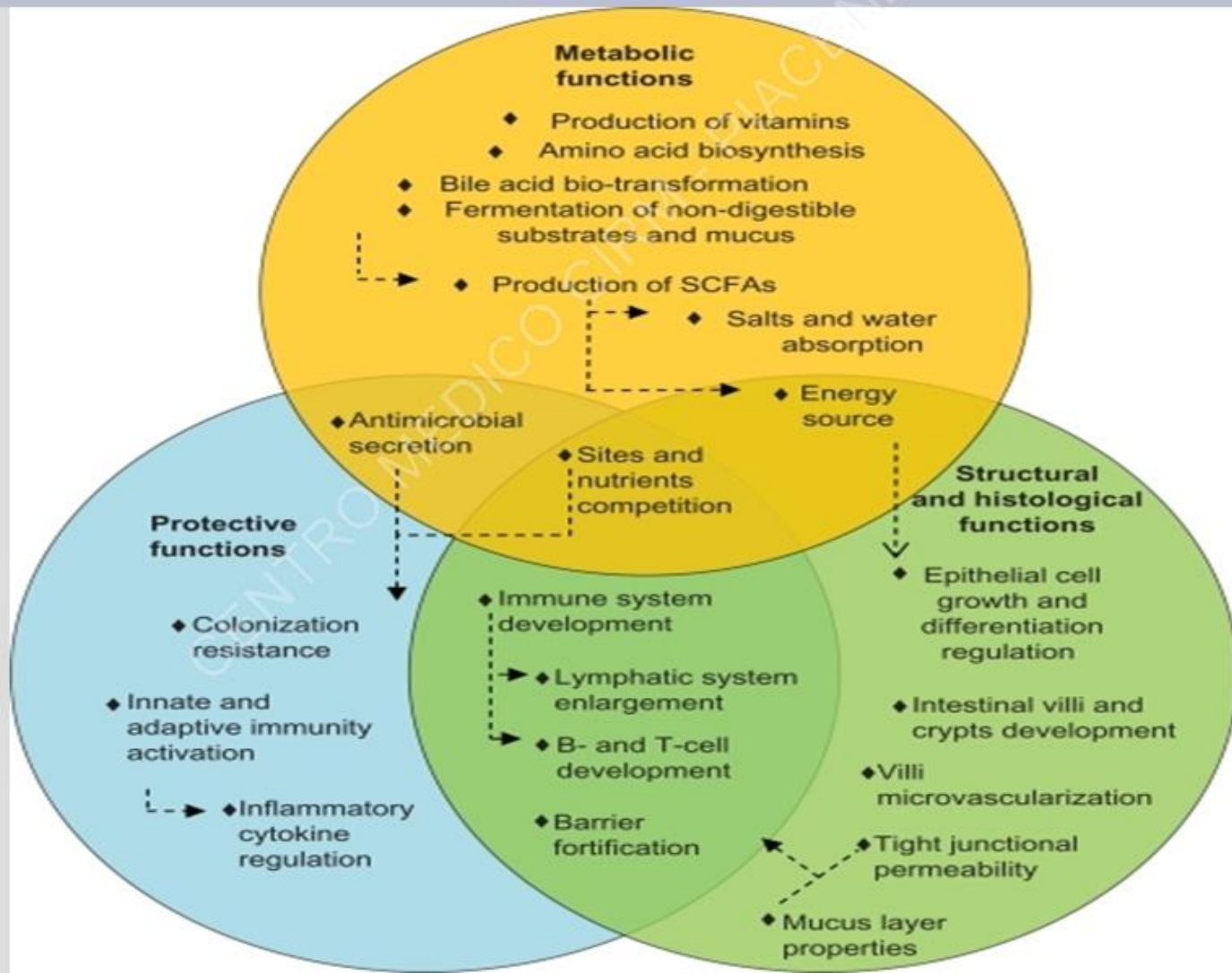
Diviene più nocivo dopo un ciclo di antibiotici, quando è in grado di proliferare.

BUONA

CATTIVA



# MICROBIOTA





# The association of a probiotic with a prebiotic (Flortec, Bracco) to improve the quality/quantity of spermatozoa in infertile patients with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a pilot study.

Maretti C. - Cavallini G.

## Summary

The hypothesis that the assumption of a probiotic associated with a prebiotic (Flortec, Bracco; one sachet contains: *Lactobacillus paracasei* B21060  $5 \times 10^9$  cells + arabinogalctan 1243 mg + oligo-fructosaccharides 700 mg + l-glutamine 500 mg) could improve the quality and quantity of spermatozoa in idiopathic oligoasthenoteratospermia (iOAT) patients to a larger extent than a control substance (starch) was tested. Forty-one patients with no chromosomal aberrations were randomized into two groups: 20 received Flortec, one sachet per day for 6 months, whereas 21 received the control substance. The following data were collected: clinical history, scrotal Doppler scans, Y microdeletion, karyotype and cystic fibrosis screens, follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E2), testosterone (T), and prolactin (PRL) levels, and two semen analyses. Both the Flortec and the starch groups underwent two semen analyses and one FSH, LH, T, E2, and PRL measurement in the blood, at the beginning of the study, and after 6 months. The comparisons were carried out using a non-parametric (Wilcoxon signed rank) test. The side effects were assessed and compared using the chi-squared test. Group 1 (Flortec) had their sperm count improved: volume of the ejaculate (median from 2.4 to 3.1 mL;  $p < 0.01$ ), sperm concentration (median: from  $15.2 \times 10^6$ /mL to  $28.3 \times 10^6$ /39 mL;  $p < 0.01$ ), progressive motility (median: from 16.2 to 42.0%;  $p < 0.01$ ), and the percentage of typical forms (median: from 7 to 16.3%;  $p < 0.01$ ); in addition, their FSH, LH, and T levels improved ( $p < 0.01$ ), while those of E2 and PRL did not. Group 2 (control substance) had no modification in 42 of the parameters studied. There were no side effects in either group. These data showed that Flortec constitutes a safe therapy for improving the volume of the ejaculate and the quality/quantity of spermatozoa in iOAT patients.

# MATERIALI e METODI

## **Flortec, Bracco; una bustina contiene:**

*Lactobacillus paracasei* B21060  $5 \times 10^9$  cellule+arabinogalattano 1243 mg+oligo-frutto-saccaridi 700 mg+l-glutamine 500 mg

**Studio pilota** su 41 pz. (20 gruppo A - 21 gruppo B) prospettico, randomizzato, controllato in doppio cieco.

Si è valutata la concentrazione degli spermatozoi, la motilità, la morfologia, il volume del liquido seminale oltre ai dosaggi ormonali (FSH, LH, PRL, T, E2) prima e dopo la somministrazione di 6 mesi di una bustina una volta al giorno di Flortec® (Bracco).

Table 1. Baseline demographic and clinical characteristics of each group.

	<b>Group 1: Flortec (n. 20)</b>	<b>Group 2: Control substance (alimentary starch) (n. 21)</b>
<b>Age (years)</b>	37 (32–42)	36 (30–43)
<b>Duration of infertility (months)</b>	18 (12-23)	17 (12-22)

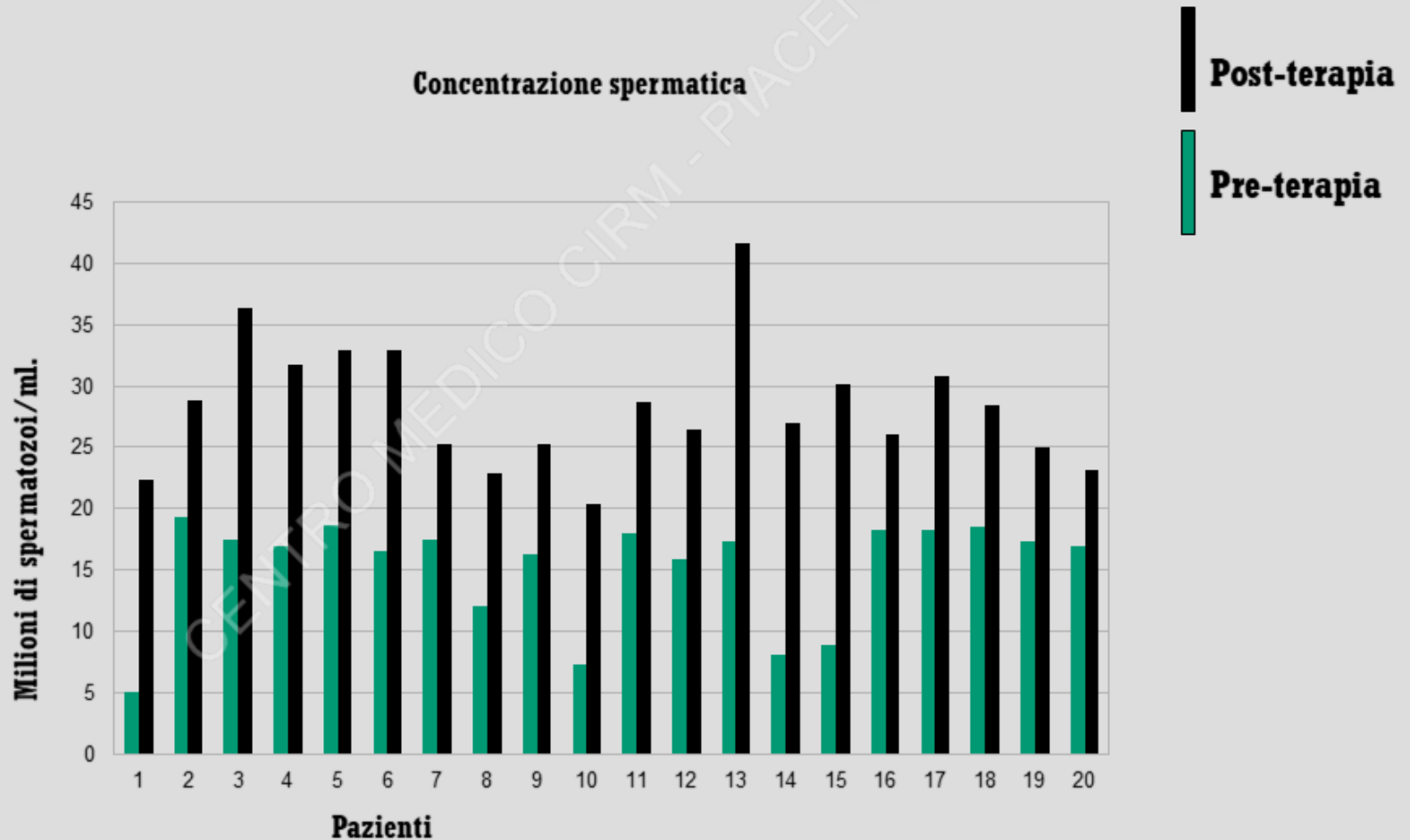
# RISULTATI

Ogni paziente ha consegnato due campioni di sperma prima e dopo la somministrazione di 1 bustina/dì di Flortec. I dati sono mostrati come valori mediani dei due campioni.

	Flortec - 20 pazienti		Sostanza di controllo (amido) - 21 pazienti		P			
	Prima somministrazione a)	Dopo somministrazione (b)	Prima somministrazione (c)	Dopo somministrazione (d)	Wilcoxon Signed Rank test		Mann-Whitney Rank test	
					(a) v/s (b)	(c) v/s (d)	(a) v/s(c)	(b) v/s (d)
Sperm concentration: Number of spermatozoa/ml x 10 <sup>6</sup>	15.2 (5.0 – 19.3)	<b>28.3</b> (20.4 – 41.6)	15.3 (6.0 – 18.8)	16.3 (7.0 – 19.8)	0.003	0.431	0.342	0.003
Progressive motile sperm(PR) (%)	16.2 (5.3 – 28.2)	<b>42.0</b> (36.0 – 51.3)	17.4 (6.4 – 29.3)	19.4 (7.4 – 29.6)	0.001	0.234	0.443	0.003
Typical forms (%) (strict criteria)	7 (5-11)	<b>16.3</b> (12.2-18.4)	6 (4-11)	7 (5-12)	0.007	0.367	0.338	0.002
Volume of the ejaculate (ml)	2.4 (2-3.5)	<b>3.1</b> (2-4)	2.4 (2-3.5)	2.5 (2-3.5)	0.009	0.354	0.332	0.006
Number of ejaculated sperm x 10 <sup>6</sup>	37.0 (10.3 – 57.9)	<b>90.0</b> (41.7 – 118.6)	36.2 (11.1 – 58.0)	37.5 (10.9 - 58.9)	0.004	0.437	0.654	0.005
FSH (reference range: 2-10IU/L)	5.1 (2-9.4)	<b>7.6</b> (4.1-12)	4.9 (2.5-8.2)	5.0 (2.4-8.3)	0.007	0.431	0.334	0.008
LH (reference range: 2-10 UI/L)	4.4 (2.4-6.3)	<b>5.7</b> (3.3-7.3)	4.6 (2.3-6.2)	4.5 (2.3-6.4)	0.009	0.432	0.541	0.008
T (reference range: 12-34nmol/L)	25.3 (20.9-32.3)	<b>30</b> (25.4 – 36.4)	24.8 (21.2-33.2)	25.4 (22.3–22.5)	0.005	0.175	0.149	0.007
PRL (reference range: 2-15mcg/L)	8.3 (4.1-14.7)	<b>7.7</b> (3.6-14.1)	8.9 (4.6-15)	8.5 (5.7-13.9)	0.145	0.218	0.117	0.118
E2 (reference range: 10-40pg/ml)	16.3 (12.3-25.6)	<b>17.4</b> (13.2-30.4)	17.2 (12.6-22.49)	16.4 (13.2-20.9)	0.116	0.231	0.318	0.319

**Tabella 2.** I confronti tra la concentrazione degli spermatozoi, motilità, morfologia, il volume del liquido seminale e i dosaggi ormonali: FSH, LH, testosterone totale (T), PRL e 17-beta-estradiolo (E2) all'inizio dello studio e dopo una somministrazione di 6 mesi di Flortec® (Bracco) una bustina una volta al giorno (Lactobacillus paracasei B21060 5x10<sup>9</sup> cellule + Arabinogalattano 1.243 mg + oligo-frutto-saccaridi 700 mg + L glutammina 500mg) (gruppo 1) o una sostanza di controllo (amido alimentare) (gruppo 2). I dati sono mostrati come valori mediani, e gli intervalli sono tra parentesi. Tutti i parametri hanno una significatività con un p < 0,01 ad eccezione dei valori di PRL e di E2.

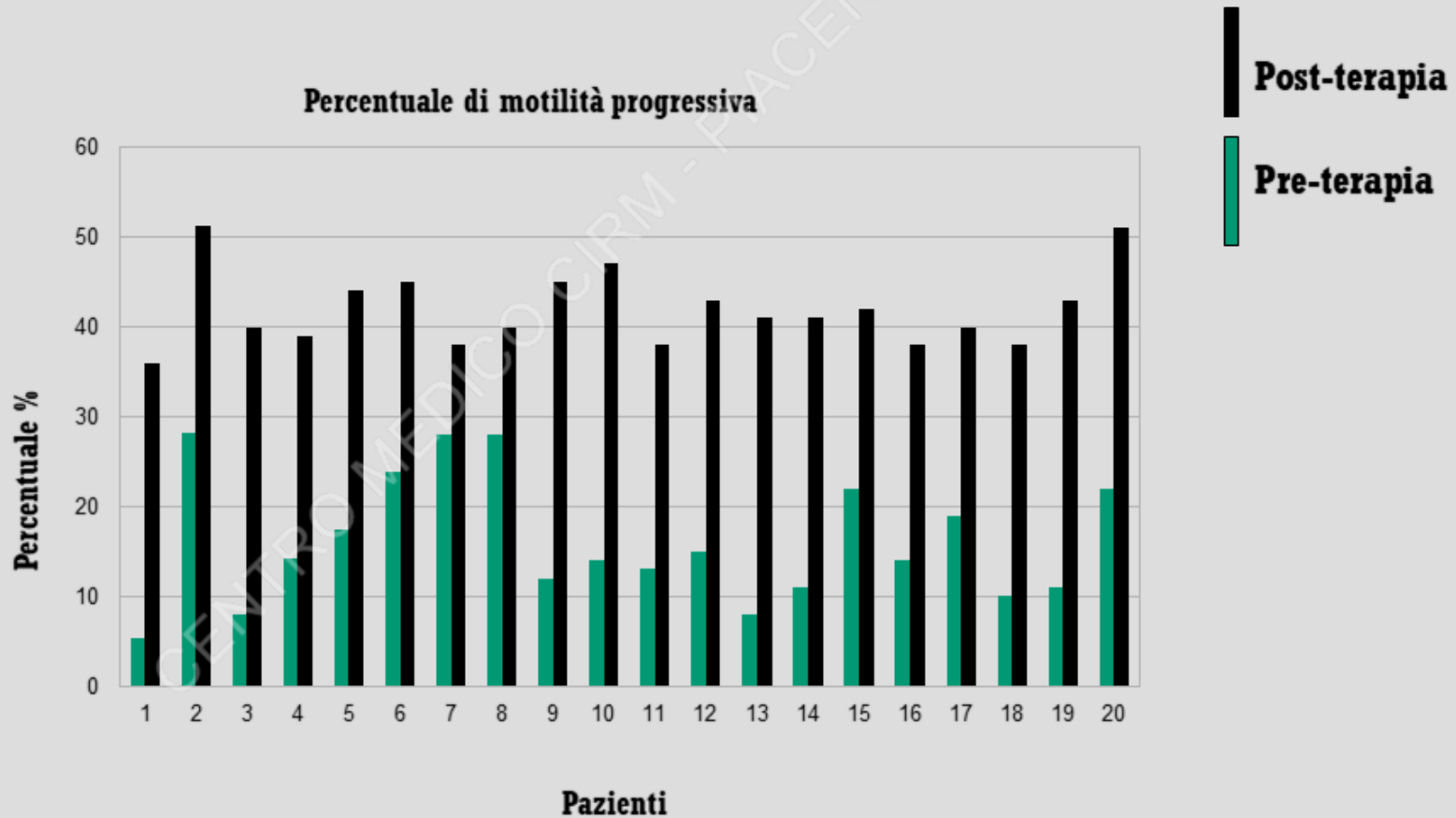
# RISULTATI



mediana: da  $15.2 \times 10^6/\text{ml}$  a  $28.3 \times 10^6/39 \text{ ml}$ ;  $p < 0.01$

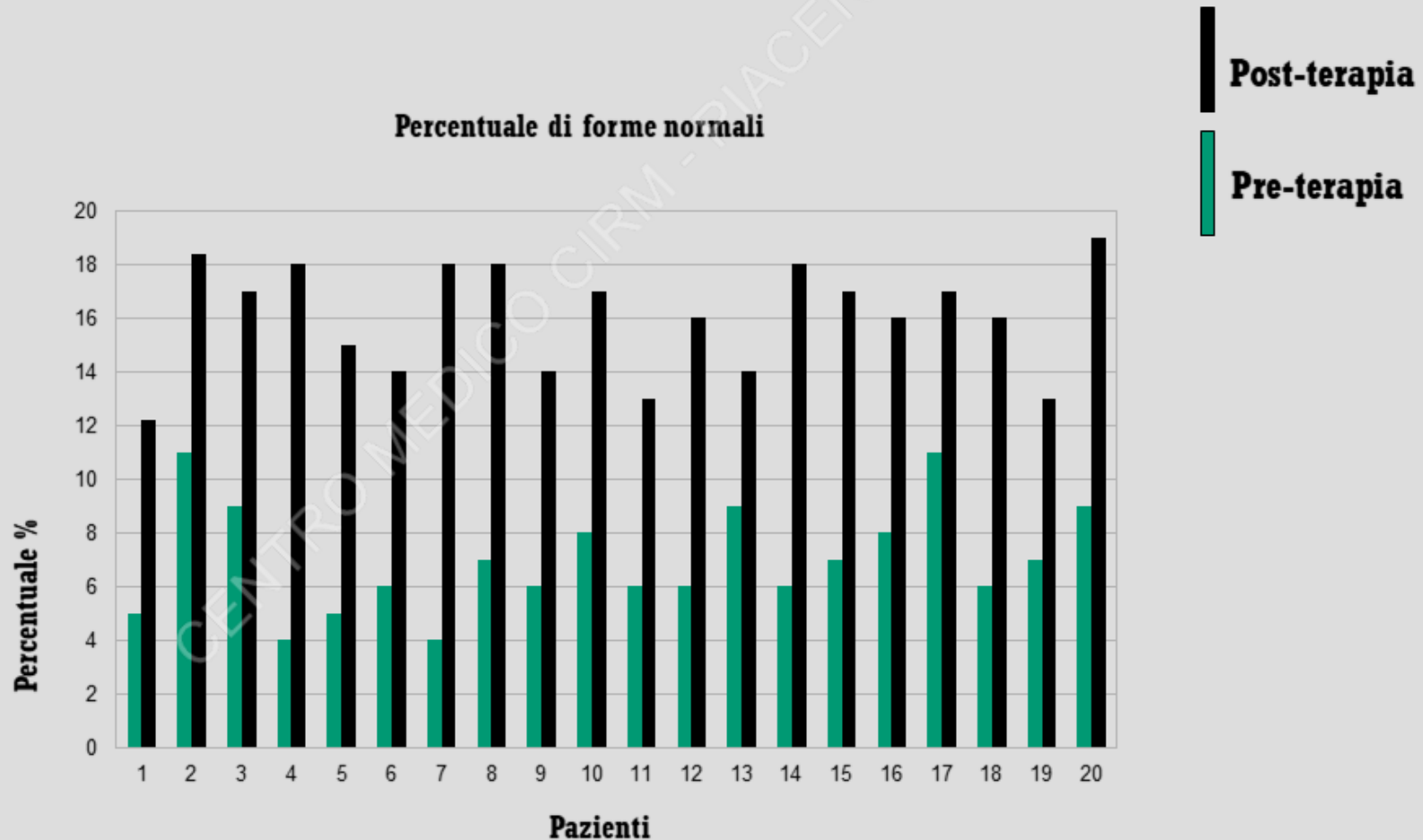


# RISULTATI



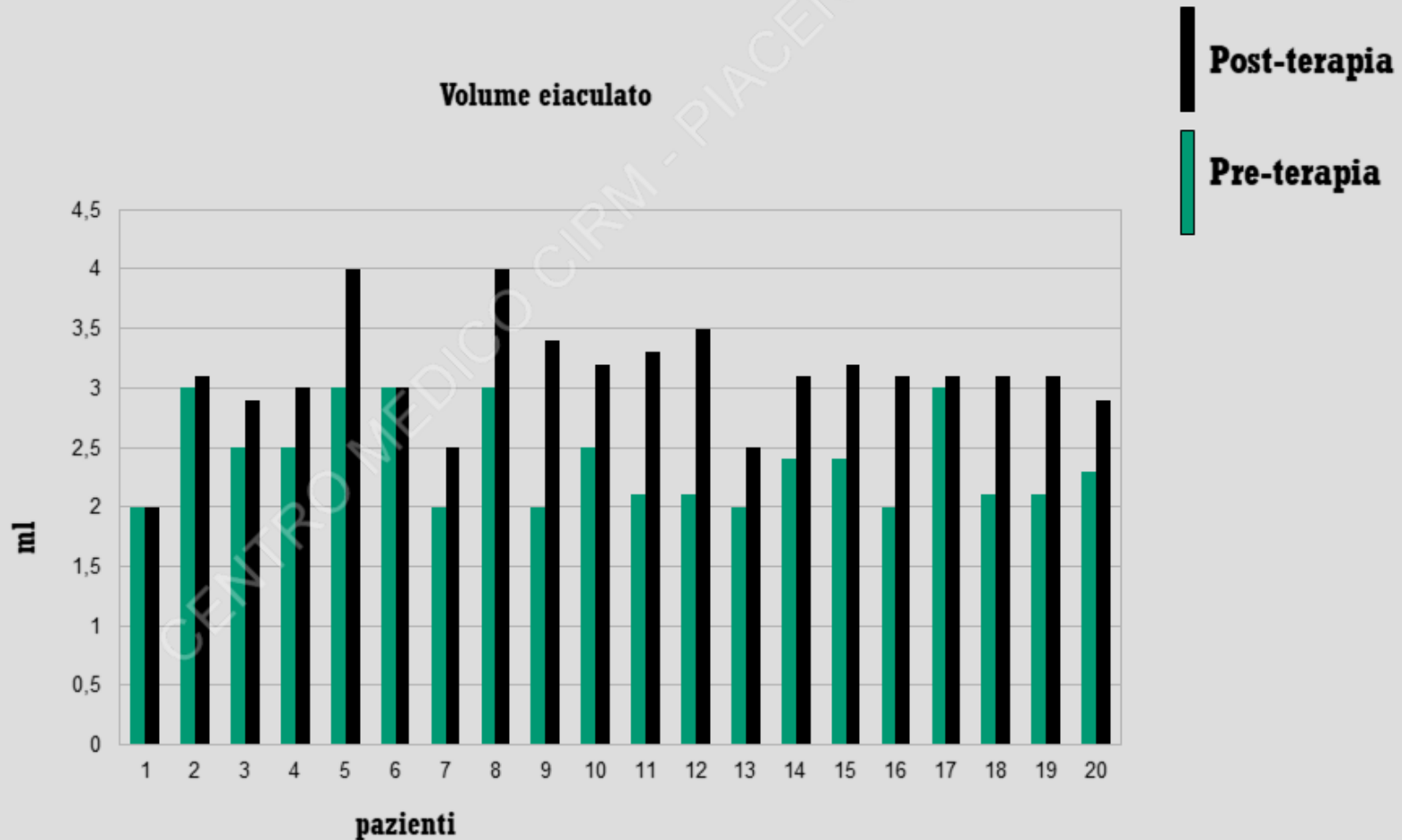
**mediana: da 16.2% a 42.0%;  $p < 0.01$**

# RISULTATI



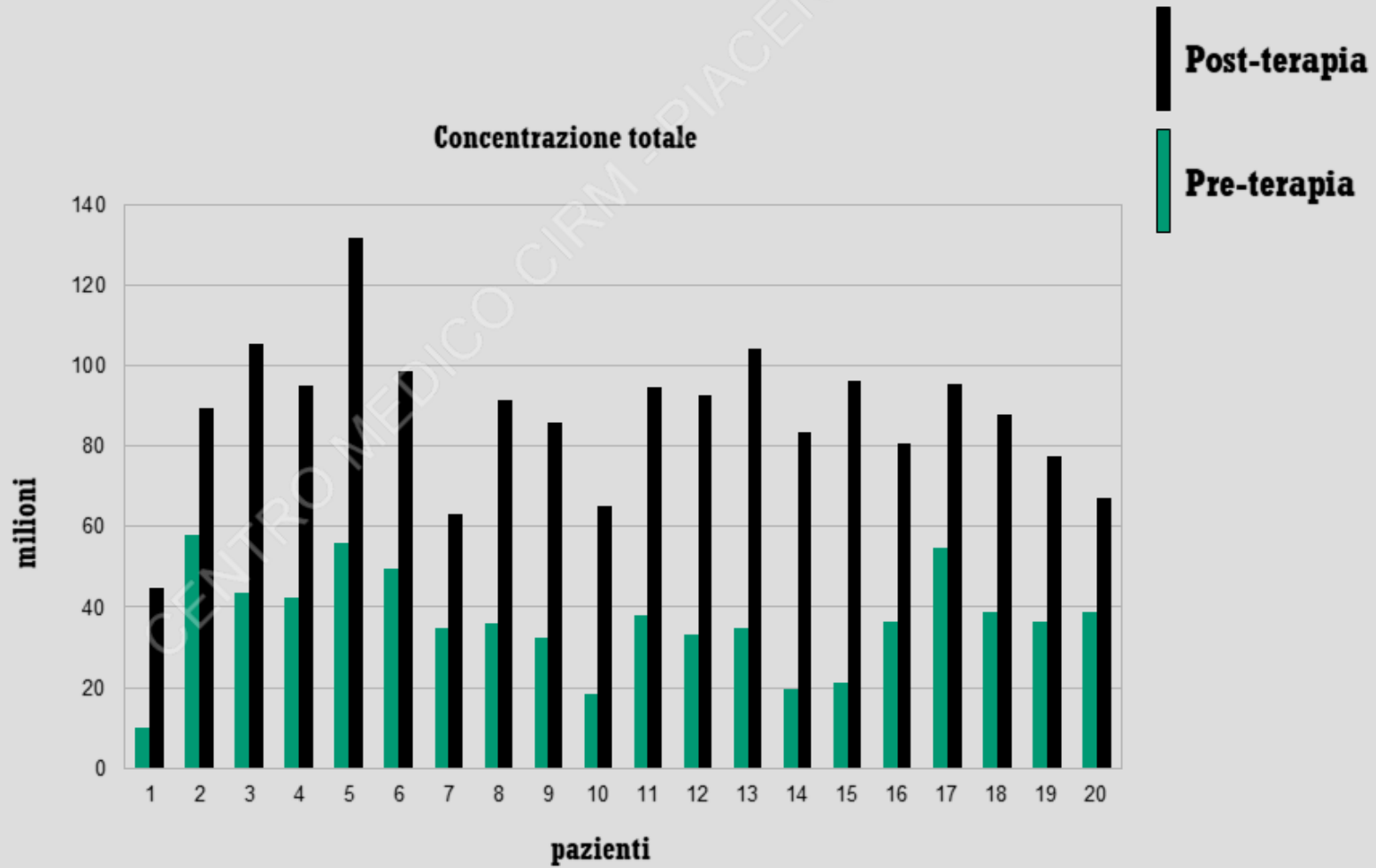
mediana: da 7 a 16.3%;  $p < 0.01$

# RISULTATI



Mediana: da 2.4 a 3.1 ml;  $p < 0.01$

# RISULTATI





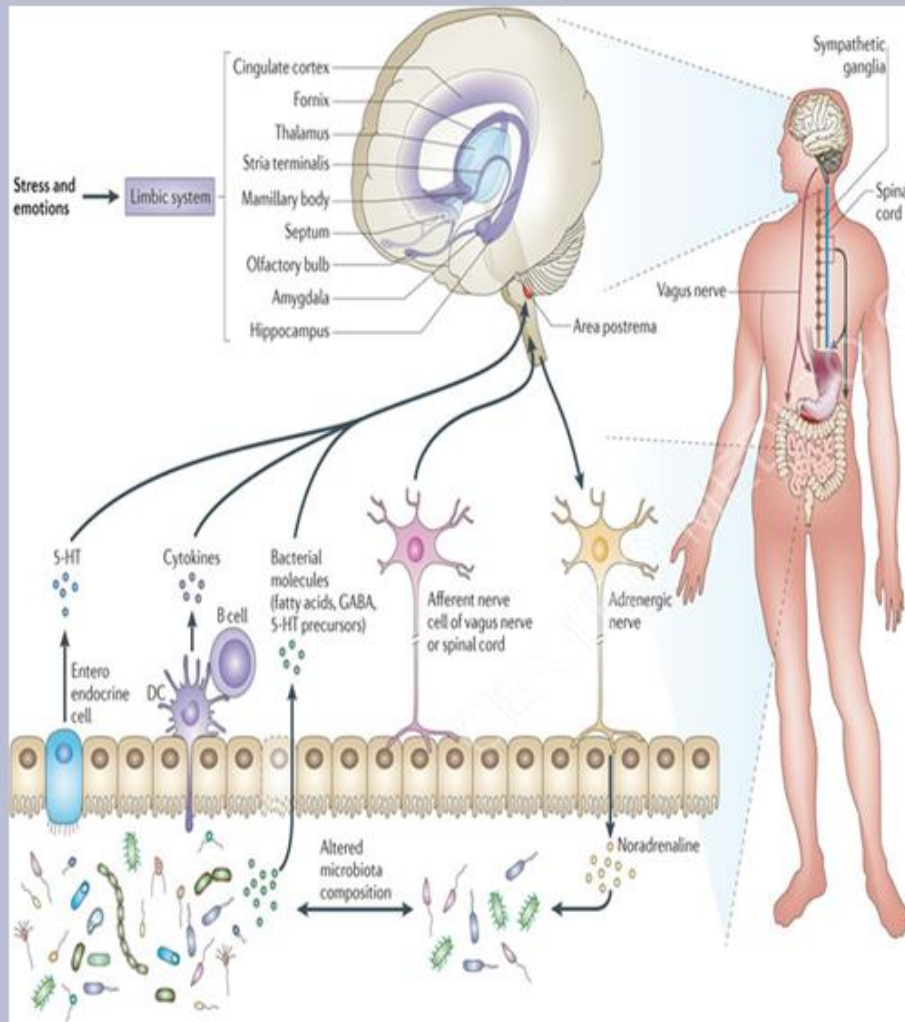
# MICROBIOTA COME TARGET PER IL TRATTAMENTO DELLA INFERTILITÀ MASCHILE IDIOPATICA

Da questo studio pilota sull'uomo, abbiamo dimostrato che la somministrazione di probiotici può migliorare la fertilità maschile, **probabilmente** perché stimola la risposta immunitaria, riducendo il danno ossidativo anche attraverso la riduzione dei livelli di endotossine e radicali liberi (Wang et al 2016; Hou et al 2013) inoltre stimolando la secrezione di kisspeptina (Liu & Herbison 2016) a livello ipotalamico regola il gonadatropin releasing hormone (GnRH) fondamentale per il rilascio delle gonadotropine ipofisarie.

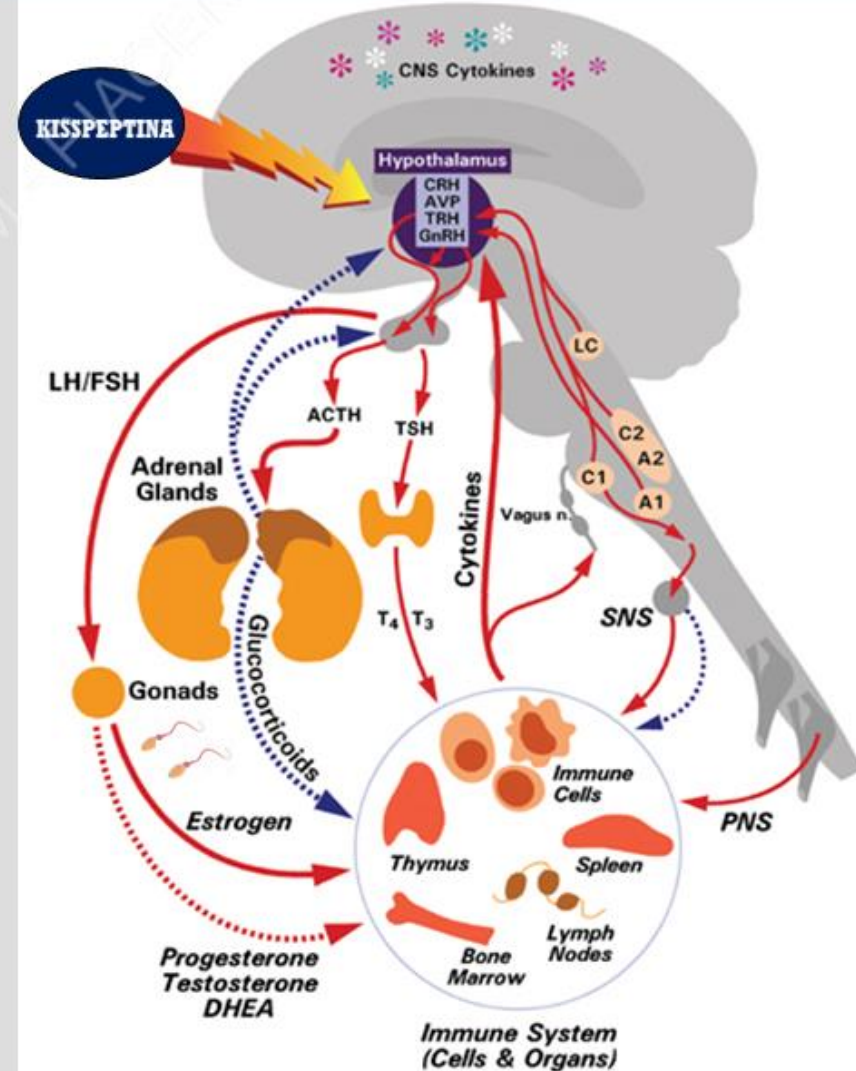
La modulazione terapeutica della flora intestinale potrebbe essere una strategia aggiuntiva alle attuali terapie, per il trattamento dell'infertilità maschile idiopatica, con lo scopo di prevenire o ritardare il danno sulle cellule germinali.

Poiché gli effetti dei probiotici sono ceppo-dipendenti, ulteriori studi clinici sono necessari per determinare quale ceppo probiotico sarà meglio utilizzare e quale popolazione di pazienti deve essere trattato.

# CONCLUSIONI



**Il microbiota e il Sistema Nervoso centrale**



**Immune System (Cells & Organs)**