

INDICE (cliccabile)

1. Epidemiologia infertilità e natalità*
2. Anamnesi e fattori di rischio
3. Diagnosi di ovulazione
4. Riserva ovarica
5. Fattore utero-tubarico
6. Fattori di rischio
 - a.* Stile di vita
 - b.* Amenorree
 - c.* PCOS
 - d.* Endometriosi
 - e.* Miomi
 - f.* Significato della patologia disfunzionale dell'endometrio nell'infertilità*
7. Diagnostica genetica nell'infertilità di coppia
8. Poliabortività
9. Preservazione della fertilità nelle pazienti oncologiche*
10. Definizione di percorso clinico-diagnostico condiviso della coppia infertile*

ANAMNESI ED ESAME OBIETTIVO FEMMINILE

La prima tappa di valutazione della paziente con potenziali problematiche di fertilità implica il sostanziale sinergismo tra anamnesi, esame obiettivo ed ecografia pelvica al fine di individuare i possibili fattori di rischio quali:

- Età >35 anni
- BMI >30
- Poliabortività
- Infertilità da più di 3 anni
- Irregolarità mestruali
- PID
- Anamnesi familiare di POF
- Endometriosi III-IV stadio
- Fattori iatrogeni (chemio, radioterapia, *endocrine disruptors* etc.)

Pertanto alla fine di questo iter sarà possibile in linea di massima considerare due gruppi di pazienti:

- Pazienti senza fattori di rischio
- Pazienti con fattori di rischio

La Figura 1 riassume schematicamente come l'integrazione dell'anamnesi, esame obiettivo ed ecografia può esplorare diversi aspetti morfo-funzionali e delineare di fatto già dei percorsi diagnostico-terapeutici differenziali.

Pertanto:

- Nel caso di assenza di fattori di rischio si proseguirà secondo un iter diagnostico che verrà sviluppato nei successivi capitoli.
- Nel caso di individuazione di fattori di rischio concretamente si porrà l'ipotesi di valutazioni più personalizzate sul fronte della funzionalità ovarica e/o sugli aspetti morfo-funzionali utero-tubarici.

Per quanto attiene la prima condizione (funzionalità ovarica) i dati anamnestici correlabili (irregolarità del ciclo, età, cause iatrogene, fattori metabolici, abortività ripetuta) si possono opportunamente integrare con l'esame obiettivo volto alla valutazione sia di condizioni generali (BMI in eccesso o in difetto; irsutismo-iperandrogenismo) sia di situazioni distrettuali (galattorrea, masse ovariche, patologie cervico-vaginali). È chiaro che l'ecografia contribuirà fortemente a delineare la presenza di quadri fisiopatologici attinenti l'ovaio (PCO, riserva ovarica ridotta, cfr. capitoli specifici) o di alterazioni anatomiche a carico delle gonadi.

Lo stesso procedimento si può applicare ad una valutazione sia del fattore uterino sia del fattore tubarico-pelvico attraverso l'integrazione clinico-anamnestica ed ecografica.

Da tutto questo può emergere dunque una diversa priorità di una valutazione più squisitamente endocrina rispetto ad un iter diagnostico che privilegi l'approfondimento morfo-funzionale dell'apparato genitale interno.

Traducendo tutto ciò in quadri clinici cui si relazionano fattori di rischio differenti, si possono quindi ipotizzare i seguenti comportamenti clinici:

- a. Laddove sia evidenziabile un concreto rischio di patologia utero-tubarica è consigliabile l'esecuzione della laparoscopia.
- b. Nel caso di individuazione di rischio relazionabili con alterazioni della funzione ovarica si potrà procedere ad esami più approfonditi di tipo endocrino (riserva ovarica, diagnostica dell'ovulazione, funzionalità tiroidea, stato endocrino-metabolico) nonché ad una valutazione utero-tubarica di primo livello.

- c. In situazioni specifiche, quali oligomenorrea e poliabortività, si dovrà ricorrere alla integrazione con gli iter diagnostici specifici.
- d. Situazioni particolari (cisti ovariche, fibromi) richiedono la integrazione con criteri di eleggibilità per intervento chirurgico anche in relazione alla condizione di sterilità coniugale.

CICLO	ANAMNESI Cause iatrogene Ovulazione Riserva ovarica Età Fattori metabolici Aborti ripetuti	ES. OBIETTIVO BMI Irsutismo-iperandrogenismo Galattorrea Masse pelvihe Patologie cervico-vaginali	ECOGRAFIA PCO Riserva ovarica Masse ovariche
			
		VALUTAZIONE ENDOCRINA	
FATTORE UTERINO	Metrorragie IVG IUD Abortività ripetuta Malformazioni Chirurgia pregressa	Fibromi Malformazioni	Fibromi Malformazioni Polipi endometriali
			
		ISC/FATT. UTERO-TUBARICO	
FATTORE TUBARICO-PELVICO	PID Dismen./Dispar. Cistiti/vaginiti rec. IUD Chirurgia pregressa	Endometriosi Sacto/idrosalpinge Sdr. aderenziale	Endometriosi Sacto/idrosalpinge Sdr. aderenziale
			
		ISC/FATT. UTERO-TUBARICO	

DIAGNOSI DI OVULAZIONE

L'ovulazione è il processo in cui si ha il rilascio di un ovocita maturo con il suo cumulo ooforo, attraverso la rottura di un follicolo di Graaf. Sono dunque indispensabili cambiamenti della parete follicolare, del volume del fluido follicolare e dell'ovocita. Questi sono successivi al rapido picco di LH, che, attraverso un feedback positivo, risponde agli elevati livelli di estradiolo prodotti dalle cellule della teca dei follicoli reclutati. In realtà, lo "scoppio" del follicolo si ha solitamente dalle 36 alle 38 ore dall'inizio del rialzo di LH, fenomeno che può essere determinato con la misurazione delle concentrazioni di LH nel sangue o nelle urine. Queste considerazioni vengono utilizzate anche per il *timing* dell'inseminazione intrauterina o del trasferimento embrionario nelle Tecniche di Riproduzione Assistita (ART).

Dal punto di vista anamnestico, una irregolarità del ciclo mestruale suggerisce una disfunzione ovulatoria, mentre un ciclo mestruale regolare viene considerato capace anche di ovularietà normale, ma non è sempre così. È possibile infatti che mesi con ciclo regolare non siano ovulatori. Per tale motivo, se si vuole avere conferma di regolari ovulazioni può valere la pena procedere con un controllo, che dovrebbe essere fatto con tecniche semplici e poco costose. Bisogna tuttavia sottolineare che nessun metodo di monitoraggio (biologico, endocrino o ecografico) della ovulazione può dare la certezza ma solo la presunzione dell'avvenuta ovulazione. L'unica prova di ovulazione è rappresentata dall'instaurarsi di una gravidanza. Storicamente le procedure più comuni e meno costose includono la registrazione della temperatura corporea basale e il test del muco cervicale.

La **temperatura corporea basale** (*Basal Body Temperature* - BBT) si rileva quotidianamente al risveglio dopo il normale riposo notturno e la sua registrazione ha il vantaggio di essere il sistema diagnostico più economico e di più facile esecuzione per valutare lo stato ovulatorio. Si basa sul fatto che gli steroidi ovarici agiscono a livello dei centri termoregolatori del sistema nervoso centrale, influenzando la temperatura corporea. In particolare, gli estrogeni determinano una riduzione della temperatura corporea, mentre il progesterone la eleva. L'abbassamento ed il successivo rialzo termico dovrebbero corrispondere all'ovulazione. Tuttavia tale fenomeno biologico risponde alla legge del "tutto o niente", con una soglia di risposta molto bassa in relazione ai livelli di progesterone circolanti: pertanto non sempre la bifasicità del profilo della BBT è indice di avvenuta o efficiente ovulazione. Il vantaggio del rilievo della BBT è quello di poter usufruire di una osservazione per più cicli che altre metodiche non consentono con tale agevolezza, ma i limiti riguardano la modalità di rilevamento della temperatura e l'eventuale presenza di fattori interferenti (stress, malattie infiammatorie, febbre); per tale motivo questa metodica non sembra mostrare efficacia soddisfacente.

Con il **test del muco cervicale** è possibile valutare le modificazioni quali-quantitative di questo secreto ghiandolare, tipiche del periodo ovulatorio (abbondante, fluido, con filamentosità >9 cm e con cristallizzazione a foglia di felce completa). Anche per quanto riguarda questa metodica l'attendibilità dei risultati non può essere considerata soddisfacente.

La metodica più affidabile è considerata la misurazione del progesterone plasmatico in fase medio-luteale. Il *Royal College of Obstetrics & Gynecology* indica che, in caso di cicli regolari (ossia di 25 - 35 giorni), l'analisi del **progesterone**, con **un** semplice prelievo di sangue, andrebbe effettuata 7 giorni prima della mestruazione attesa (fase medio-luteale, ad esempio il 21°-22° giorno di un ciclo ovarico di 28 giorni); invece **in** donne con cicli più lunghi di 35 giorni (oligomenorrea) o più brevi di 25 giorni (polimenorrea) questo esame risulterebbe poco utile. In questi casi si suggerisce di effettuare altre analisi ormonali, come ad esempio i dosaggi di TSH (Thyroid Stimulating Hormone), T (Testosterone), e PRL (Prolattina), soprattutto se oltre alla presunta anovulazione si osservano anche, rispettivamente, galattorrea, segni di iperandrogenismo clinico o disordini tiroidei, noti o sospetti.

In realtà, dal momento che solo il 9% dei cicli mestruali regolari sono anovulatori, il dosaggio del progesterone plasmatico della fase medioluteale può essere superfluo nelle donne con cicli regolari, mentre può essere utile la sua determinazione per 1-2 mesi nelle pazienti con irregolarità mestruali. Se effettuato realmente 7 giorni prima della mestruazione attesa - recita il Royal College of Obstetrics & Gynecology – può essere considerato altamente indicativo di avvenuta ovulazione un dosaggio di progesterone plasmatico superiore **a** 10 ng/ml. Sarebbe da ripetere invece in cicli successivi qualora si ottengano valori minori di 10 ng/ml **e** soprattutto minori di 5 ng/ml.

Il limite di questo esame è rappresentato dal fatto che **il** range di variabilità dei livelli di Progesterone nella fase luteale, **così** come in gravidanza, è particolarmente ampio, **e** si osservano quindi oscillazioni tra donne diverse **e** fra ciclo **e** ciclo. **Inoltre** la **fisiologica** ampia pulsatilità del progesterone circolante di fatto rende problematica proprio la definizione di *cut-off* per la diagnostica dell'ovulazione accettabili **e** validi.

Per quanto riguarda gli esami strumentali, una opzione è rappresentata dal **monitoraggio follicolare ecografico**, che rappresenta una tecnica non invasiva, capace di fornire informazioni in tempo reale relative all'ovulazione spontanea o eventualmente indotta. Mediante l'esame ultrasonografico, infatti, è possibile valutare le modificazioni cicliche endometriali, la crescita follicolare e gli eventuali segni di avvenuta ovulazione, considerando i parametri relativi all'endometrio (spessore, ecogenicità) e all'ovaio (diametro medio follicolare e numero di follicoli). I segni ecografici di avvenuta ovulazione, invece, sono la scomparsa o la deiezione del follicolo dominante, la presenza del corpo luteo, di un'eventuale falda fluida nel Douglas e il viraggio in senso secretivo (maggior ecogenicità) dell'ecopattern endometriale. Purtroppo però la presenza di un corpo luteo non può garantire l'avvenuto distacco del complesso cumulo-corona-ovocita dalla parete del follicolo e la conclusione del processo di maturazione

nucleare ovocitario (ovocita allo stadio di metafase II) che rende l'ovocita potenzialmente fecondabile.

Il razionale del monitoraggio follicolare nei cicli spontanei è quello di verificare la presunta ovulazione e mirare i rapporti. Questo può soprattutto risultare utile in presenza di cicli non proprio regolari.

Nell'ambito dell'esperienza clinica su tale metodica venne identificato un quadro clinico su cui si è a lungo discusso: la LUF (*Luteinized Unrupted Follicle Syndrome*) o sindrome di luteinizzazione follicolare, caratterizzata dalla presenza di una luteinizzazione del follicolo senza estrusione dell'ovocita, per cui a livelli di progesterone plasmatici non si associa il meccanismo dell'ovulazione. Studi successivi hanno ridimensionato l'importanza della LUF, che sebbene sia relativamente frequente, solo in pochi casi rappresenta per la sua ripetitività un meccanismo causale di disturbo ovulatorio correlabile con la ridotta fertilità della donna. Infine, solo in **casi** particolari può essere teoricamente utile ricorrere ad indagini particolari come il prelievo di un campione endometriale per l'esame istologico per rilevare le modificazioni secretorie post-ovulatorie. Tuttavia, poiché mancano sia criteri standard nell'identificazione dei quadri istologici sia accordo nella loro interpretazione, è difficile assegnare un reale significato a questa procedura fra l'altro invasiva.

Sinossi

1. In donne con ciclo mestruale regolare solo il 9% circa dei cicli sono anovulatori: pertanto in questi soggetti non occorre effettuare indagini poiché mediamente in un anno di esposizione a rapporti mirati solo 1-2 cicli sarebbero anovulatori e ciò non costituirebbe, da un punto di vista statistico, un fattore di diminuzione della fertilità.
2. Tra le indagini eseguibili soprattutto in pazienti con cicli irregolari il marker più accreditato è il progesterone plasmatico in fase medio-luteale. Sono tuttavia ancora oggetto di discussione per la corretta diagnosi di avvenuta ed efficiente ovulazione: a) i valori di *cut-off*; b) la opportunità di più determinazioni.
3. Tra le altre metodiche: a) la BBT per 3-6 mesi; b) l'esecuzione di "*home test*" biochimici e/o biofisici; c) il monitoraggio ecografico della crescita follicolare; d) la valutazione del muco cervicale. Molto problematica la diagnostica endometriale.
4. Tuttavia, l'unica prova di una certa ovulazione è rappresentata dall'instaurarsi di una gravidanza.
5. Infine, resta importante l'esecuzione di un dosaggio basale (3°-5° giornata del ciclo) di FSH, LH, Estradiolo ed ormoni tiroidei e di una ecografia transvaginale sempre in fase follicolare iniziale per la valutazione morfologica delle ovaie.

Bibliografia

1. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists evidence based clinical guide lines. Initial investigation and management of the subfertile couple. London: RCOG Press 1998.
2. Balen A, Jacobs H. Infertility in practice. 2nd ed London: Churchill Livingstone 2003.
3. Hull MG, Savage PE, Bromham DR et al. The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase as a criterion of a potentially fertile cycle ("ovulation") derived from treated and untreated conception cycles. *Fertil Steril* 1992; 37:355-360.
4. Taylor A. ABC of subfertility. Making a diagnosis. *BMJ* 2003; 327:494-497.
5. Hamilton-Fairley D, Taylor A. ABC of subfertility. Anovulation. *BMJ* 2003; 327:546-549.
6. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance (NICE). Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. London: Royal College of Obstetricians & Gynaecologists, 2013.
7. Jones G, Carlton J, Weddell S, et al. Women's experiences of ovulation testing: a qualitative analysis. *Reprod Health*. 2015;12:116.

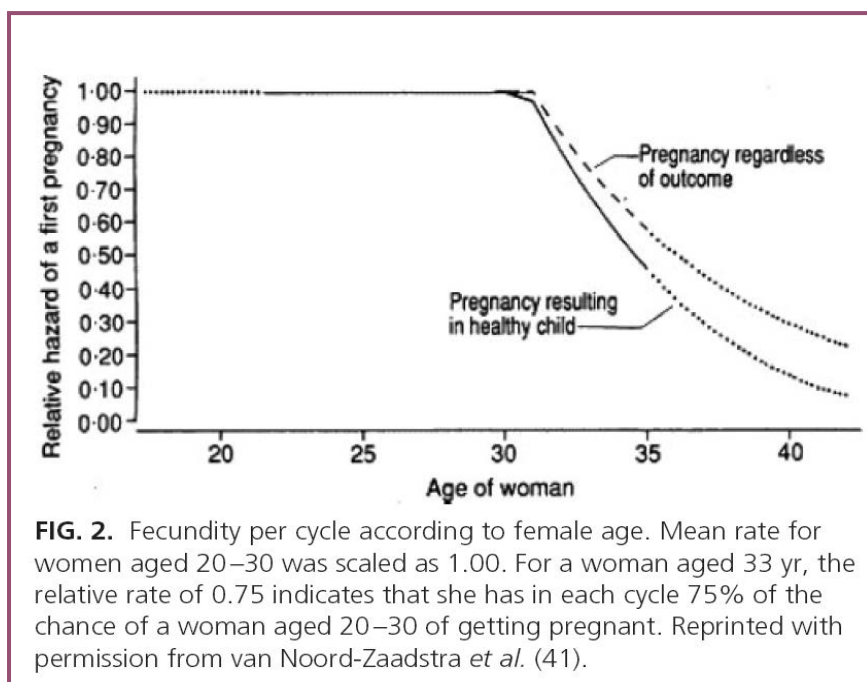
LA RISERVA OVARICA

Stefania Piccolo, Massimo Manno e Francesco Tomei – Presidio Ospedaliero di Pordenone – SSD Fisiopatologia della Riproduzione Umana Banca del Seme e degli Ovociti

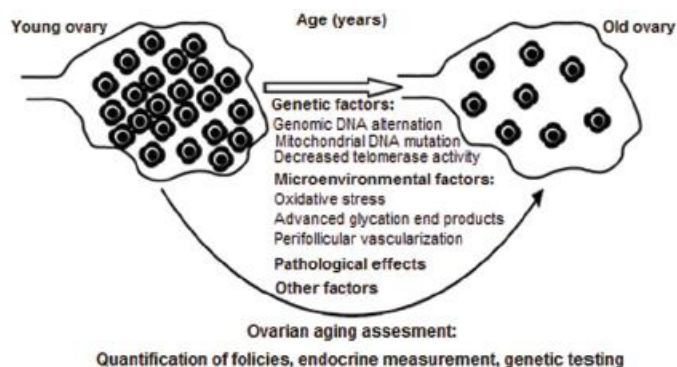
L'unità funzionale dell'ovaio sia per quanto riguarda la funzione endocrina che per quella gametogenetica è costituita dal follicolo ovarico. Il patrimonio follicolare della donna va incontro ad una fisiologica ed inarrestabile riduzione nel corso degli anni, con una sensibile accelerazione dopo i 33 anni, dal che ne deriva il fatto che la capacità riproduttiva della donna è una funzione temporalmente limitata.

All'inizio della pubertà solitamente la donna possiede circa 400.000 follicoli primordiali, ognuno dei quali contiene al suo interno un ovocita immaturo, ma solo 300 / 400 di essi giungono a maturazione durante la vita fertile di una donna: gli altri follicoli vanno in atresia e tale processo risulta accelerato negli ultimi 10-15 anni che precedono la menopausa (1). Il declino della fertilità età-dipendente si associa frequentemente ad una riduzione della probabilità di concepimento spontaneo e alla riduzione della probabilità di portare a termine la gravidanza. Quando la donna raggiunge la menopausa il *pool* di follicoli ovarici raggiunge la soglia critica di circa 1000 che si può manifestare clinicamente con irregolarità mestruale (2).

Il fattore età della donna è di straordinaria importanza quando si parla di concepimento spontaneo e tecniche di fecondazione medicalmente assistita: è il principale limite naturale posto alla fertilità umana (3). Con l'età, inoltre, aumenta il rischio di abortire spontaneamente. Sebbene esistano evidenze scientifiche che la fertilità nella donna diminuisca a partire dai 25-28 anni, è unanimemente accettato che la riduzione della capacità riproduttiva nella *partner* femminile inizi attorno ai 35 anni, con un progressivo e considerevole calo fino al completo esaurimento della funzionalità ovarica". (3)



Al progressivo esaurimento quantitativo della riserva ovarica si accompagna un peggioramento della qualità ovocitaria responsabile di un importante aumento delle aneuploidie a loro volta responsabili della ridotta fertilità, dell'aumentata abortività e dell'aumentato rischio di gravidanza aneuploide (4).



Esiste tuttavia un'ampia variabilità individuale nell'*aging* ovarico legata ad una variabilità nel patrimonio follicolare iniziale e a diversa velocità nel suo depauperamento determinato non solo da fattori genetici, ma anche da patologie ginecologiche o sistemiche, stili di vita (fumo, BMI) ed eventuali terapie gonadotossiche.

I *markers* per la valutazione della riserva ovarica includono: *markers* biochimici (FSH, estradiolo, inibina B, AMH) e *markers* ecografici ovarici (volume ovarico, conta follicolare antrale, diametro ovarico maggiore) (5).

Markers di riserva ovarica: ormone follicolo-stimolante (FSH) ed estradiolo (E2)

A partire dai 35-40 anni di età solitamente si assiste ad una progressiva elevazione dei livelli basali di FSH, determinato in fase follicolare precoce. L'incremento di FSH è un indicatore indiretto di riduzione della riserva ovarica a seguito della riduzione del *feedback* negativo esercitato da inibina B ed estradiolo sull'ipofisi (4). Sebbene il dosaggio di FSH in terza giornata del ciclo sia spesso usato come *marker* di riserva ovarica, è doveroso precisare che è un parametro poco accurato per predire una cattiva prognosi riproduttiva e un'eventuale risposta *poor* alla stimolazione ovarica controllata. Un altro problema relativo alla misurazione dell'FSH è dato dalla sua ampia variabilità intra ed interciclica: le variazioni di FSH tra una fase follicolare e l'altra possono essere anche maggiori del 50% riducendo quindi inevitabilmente la *performance* predittiva globale di questo *marker* (6).

Anche l'estradiolo basale mostra una bassa accuratezza predittiva a causa della mancanza di un *cut-off* con alta sensibilità e specificità, per cui questo *marker* mostra una scarsa utilità prognostica nelle pazienti che si sottopongono a cicli di fecondazione medicalmente assistita (6).

FSH ed E2 devono di necessità esser valutati insieme e contemporaneamente, in fase follicolare precoce, per aumentare la sensibilità nell'individuare le donne con bassa riserva ovarica stante la frequenza dell'osservazione di valori di FSH normali ma solo grazie al feedback negativo esercitato da alti valori di E2.

Markers di riserva ovarica: inibina B

L'inibina B è un polipeptide dimerico prodotto dalle cellule della granulosa dei follicoli antrali durante la fase follicolare. La diminuzione della secrezione di inibina B, legata alla riduzione del *pool* di follicoli antrali età-dipendente, si associa ad elevati livelli di FSH. Tuttavia, la riduzione di tale secrezione si verifica solo tardivamente pertanto, allo stato attuale, l'inibina B viene considerata come *marker* dell'attività ovarica, più che come "*marker* quantitativo" di riserva (5,6).

Markers di riserva ovarica: ormone anti-mulleriano (AMH)

L'ormone anti-mulleriano (AMH) è una glicoproteina dimerica prodotta dalle cellule della granulosa dei follicoli preantrali ed antrali. Rispetto agli altri *biomarkers* risulta essere molto stabile con minima variabilità intra e interciclica, inoltre non necessita di una specifica temporizzazione per il suo dosaggio. L'AMH risulta appena dosabile alla nascita, raggiunge i livelli più alti verso i 25 anni e successivamente si riduce progressivamente con l'aumentare dell'età fino a divenire indosabile in menopausa (7). Uno studio del 2005 (8) ha dimostrato come l'AMH sia l'unico *marker* di riserva ovarica che dimostra avere un declino longitudinale in tutte le classi di età compreso nelle pazienti più giovani; in tale studio infatti si evidenzia che anche FSH e inibina B mostrano modificazioni significative nel tempo, ma questo *trend* risulta essere evidente solo nelle pazienti *over 40*.

Attualmente l'AMH è considerato un ottimo indicatore della riserva ovarica e di conseguenza della potenziale fertilità. Molti studi in letteratura hanno dimostrato l'affidabilità dell'AMH nel predire la risposta quantitativa alla stimolazione ovarica nelle tecniche di fecondazione medicalmente assistita (9). Il suo valore va ovviamente valutato alla luce dell'età della paziente. A tal fine Almog et al. nel 2011 hanno proposto un nomogramma che correla AMH con l'età delle pazienti (10). Gli autori suggerivano come, nel *counselling* alla coppia in cerca di gravidanza, sia fondamentale ricordare che l'AMH, così come gli altri test di riserva ovarica, non riesca a predire la qualità ovocitaria. Per questa ragione è importante informare la donna che di fronte a valori di ormone antimülleriano ridotti è possibile comunque riuscire a concepire spontaneamente o mediante tecniche di fecondazione medicalmente assistita, ma che le *chances* di successo sono ridotte rispetto ad una donna della stessa età con valori di AMH normali.

L'utilizzo dell'AMH è stato proposto anche nella predizione dell'età di insorgenza della menopausa anche se da solo sembra essere abbastanza impreciso soprattutto nelle donne di età maggiore di 40 aa. (11)

Pure essendo l'AMH uno dei biomarker di riserva ovarica più performanti vanno tenute in considerazione situazioni cliniche particolari che ne possono ridurre, almeno in parte, il valore: le pazienti in terapia con estroprogestinici o con GnRh analoghi (12) presentano valori di AMH ridotti rispetto a quelli basali. Oltre ciò nelle pazienti affette da ipogonadismo ipogonadotropo i valori di AMH non rispecchiano la reale riserva ovarica della paziente e, pur spesso indosabili, sono suscettibili di incremento dopo stimolazione con gonadotropine.

La determinazione dell'AMH inoltre ha presentato finora dei limiti, legati alla metodica non automatizzata, con conseguente elevata variabilità *interassay* e scarsa riproducibilità tra diversi laboratori. La recente introduzione di metodiche automatizzate dovrebbe garantire una miglior riproducibilità del dato e conseguentemente migliori performances nell'utilizzo clinico del biomarker in questione. Recenti evidenze sembrano confermare che i nuovi sistemi automatizzati correlino meglio dei manuali con la conta follicolare antrale (13).

TABLE 1

Correlation between the 3rd, 10th, 25th, 50th, 75th, 90th, and 97th percentiles of serum AMH level and age.

Age (y)	No. of samples	Serum AMH level (ng/mL)						
		3rd	10th	25th	50th	75th	90th	97th
<24	78	0.38	0.72	1.28	2.24	3.67	5.49	7.90
25	40	0.35	0.70	1.25	2.22	3.69	5.56	8.05
26	32	0.33	0.67	1.23	2.21	3.71	5.63	8.20
27	77	0.31	0.64	1.20	2.20	3.73	5.70	8.35
28	83	0.29	0.62	1.18	2.18	3.73	5.75	8.47
29	128	0.27	0.59	1.15	2.16	3.73	5.79	8.57
30	136	0.25	0.56	1.11	2.12	3.71	5.80	8.64
31	172	0.23	0.53	1.07	2.08	3.67	5.77	8.64
32	187	0.21	0.50	1.02	2.01	3.58	5.68	8.55
33	199	0.19	0.46	0.96	1.92	3.47	5.53	8.37
34	259	0.17	0.42	0.90	1.83	3.33	5.34	8.13
35	260	0.15	0.39	0.84	1.73	3.19	5.16	7.88
36	225	0.13	0.36	0.79	1.65	3.07	4.99	7.67
37	195	0.12	0.33	0.74	1.57	2.95	4.84	7.47
38	192	0.10	0.30	0.70	1.49	2.84	4.68	7.25
39	189	0.09	0.27	0.64	1.40	2.69	4.47	6.96
40	120	0.08	0.24	0.58	1.29	2.51	4.18	6.55
41	77	0.06	0.21	0.51	1.16	2.26	3.80	5.97
42	51	0.05	0.17	0.44	1	1.97	3.32	5.25
43	34	0.04	0.14	0.35	0.82	1.63	2.77	4.39
44	22	0.03	0.10	0.27	0.63	1.26	2.15	3.43
>45	14	0.02	0.07	0.18	0.43	0.87	1.50	2.41

Almog. Age-related normogram for antimüllerian hormone. *Fertil Steril* 2011.

Markers di riserva ovarica: conta follicolare antrale (AFC)

E' un'indagine ecografica transvaginale, molto semplice da eseguire, poco costosa e ripetibile, che rappresenta comunque un buon indicatore per la valutazione della riserva ovarica. Esistono però delle evidenze relative al fatto che tale indice di riserva ovarica è gravato da una certa dipendenza dall'operatore e dalla frequenza della sonda ecografica utilizzata. L'indagine deve essere eseguita nei primi giorni del ciclo mestruale (dal 2° al 4° giorno), quando è possibile osservare i piccoli follicoli antrali aventi un diametro maggiore compreso fra 2 e 10 mm in ogni ovaio. La conta follicolare antrale, mediante l'ecografia classica transvaginale in 2D, secondo la maggior parte degli studi

avrebbe la stessa affidabilità diagnostica dell'ormone antimulleriano. Esiste la possibilità di effettuare l'indagine ecografica mediante ecografia 3D: i risultati ottenuti con questa metodica appaiono meno operatore-dipendente e quindi più riproducibili e obiettivi. Inoltre, l'ecografia 3D consente di ottenere informazioni anche sul volume ovarico e sulla vascolarizzazione ovarica, parametri che, assieme all'AFC possono quantificare la riserva ovarica (14).

TABLE 1					
Values of 5th, 25th, 50th, 75th, and 95th centiles as a function of age.					
Age (y)	5th	25th	50th	75th	95th
16	6.2	11.6	16.6	22.6	33.2
17	6.0	11.4	16.2	22.1	32.4
18	5.9	11.1	15.8	21.5	31.6
19	5.7	10.8	15.4	21.0	30.8
20	5.6	10.5	15.0	20.5	30.0
21	5.4	10.2	14.6	19.9	29.2
22	5.3	10.0	14.2	19.4	28.4
23	5.1	9.7	13.8	18.8	27.6
24	5.0	9.4	13.4	18.3	26.8
25	4.8	9.1	13.0	17.7	26.0
26	4.7	8.8	12.6	17.2	25.2
27	4.6	8.6	12.2	16.6	24.4
28	4.4	8.3	11.8	16.1	23.6
29	4.3	8.0	11.4	15.5	22.8
30	4.1	7.7	11.0	15.0	22.0
31	4.0	7.4	10.6	14.4	21.2
32	3.8	7.1	10.2	13.9	20.4
33	3.7	6.9	9.8	13.4	19.6
34	3.5	6.6	9.4	12.8	18.8
35	3.4	6.3	9.0	12.3	18.0
36	3.2	6.0	8.6	11.7	17.2
37	3.1	5.7	8.2	11.2	16.4
38	2.9	5.5	7.7	10.6	15.6
39	2.8	5.2	7.3	10.1	14.8
40	2.6	4.9	6.9	9.5	14.0
41	2.5	4.6	6.5	9.0	13.2
42	2.3	4.3	6.1	8.4	12.4
43	2.2	4.1	5.7	7.9	11.6
44	2.0	3.8	5.3	7.3	10.8
45	1.9	3.5	4.9	6.8	10.0
46	1.7	3.2	4.5	6.3	9.2
47	1.6	2.9	4.1	5.7	8.4
48	1.4	2.7	3.7	5.2	7.6
49	1.3	2.4	3.3	4.6	6.8

Note: The value of a centile at age t can be computed as $y = M \times (1 + \text{SDS} \times L \times S)^{-1/L}$, where M is the value of the 50th centile at age t and the SD score is the value of normal deviate. $L = 0.425$; $S = 0.490$.

La Marca. Nomogram for the AFC. *Fertil Steril* 2011.

Esiste una correlazione tra età ed AFC; con l'avanzare dell'età infatti si assiste ad un progressivo declino della conta follicolare antrale (15). Oltre che per la quantificazione della riserva ovarica per il *counselling* della paziente infertile, l'AFC viene usato nella pratica clinica in fecondazione medicalmente assistita per predire la risposta della paziente alla stimolazione ormonale con gonadotropine. Livelli alti o ridotti di AFC si associano infatti ad iper o ipo-risposta all'induzione della crescita follicolare multipla.

Considerazioni cliniche e pratiche

Conoscere la riserva ovarica di una donna è un dato essenziale perché:

- 1) Consente di capire se la paziente ha un normale patrimonio follicolare
- 2) Consente di suggerire
 - un anticipo della pianificazione familiare
 - un *timing* di intervento per le tecniche di fecondazione assistita
 - la tecnica di fecondazione assistita preferenziale (inseminazione semplice vs fecondazione in vitro)
- 3) Consente di individuare un idoneo protocollo terapeutico per l'induzione della crescita follicolare multipla al fine di ottimizzare la risposta ovarica

Quando si parla di ricerca di gravidanza, sensibilizzare le donne sul fattore età e sulla riserva ovarica è molto importante per suggerire alla donna di anticipare il proprio piano riproduttivo e perché consente di minimizzare il tempo che intercorre tra la diagnosi di infertilità e l'accesso alla tecnica di fecondazione assistita più idonea alla situazione clinica. A tale scopo è auspicabile non solo l'intervento dello specialista della riproduzione, ma anche del medico di medicina generale, il quale potrebbe suggerire alla donna una tempestiva stima del proprio patrimonio follicolare. Infatti il dosaggio dell'ormone anti-mülleriano nella paziente 25enne potrebbe individuare precocemente una situazione di compromissione della riserva ovarica in un momento nel quale però la qualità degli ovociti è ancora conservata. Infine è altresì fondamentale l'intervento del Ginecologo di fiducia della donna il quale, oltre ad indagare sulla presenza anamnestica di casi di esaurimento ovarico precoce (POI o POF), nel corso della *routinaria* ecografia pelvica transvaginale, dovrebbe porre attenzione alla conta follicolare antrale, in modo da intercettare per tempo le pazienti con ridotta riserva ovarica al fine di indirizzarle precocemente allo specialista in Medicina della Riproduzione. Sarà poi compito del Medico della Riproduzione fornire un adeguato *counseling* alla donna: se la paziente sta cercando gravidanza, sarà in grado di indirizzarla subito verso il percorso di fecondazione medicalmente assistita più adatto alla situazione clinica, mentre alla giovane donna con iniziale compromissione della riserva ovarica che non stia, in quel momento, cercando gravidanza potrà essere prospettata l'opzione di crioconservare parte del proprio patrimonio follicolare mediante vitrificazione degli ovociti. Con l'utilizzo di tale tecnica, oramai non più sperimentale, sarà infatti possibile congelare ovociti di buona qualità che potranno essere successivamente utilizzati in un secondo momento qualora si instaurassero problematiche di infertilità.

Bibliografia

- 1) K Liu *et al.* Reproductive Endocrinology and Infertility Committee: Family Physicians Advisory Committee; Maternal-Fetal Medicine Committee; Executive and Council of the Society of Obstetricians. Advanced reproductive age and fertility. J Obstet Gynaecol Can. 2011; 33(11): 1165-1175.
- 2) FJ Broekmans *et al.* Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. Endocr Rev. 2009; 30(5): 465-493.
- 3) Linee Guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di PMA. Decreto 1° luglio 2015, G.U. 161 del 14-7-2015.
- 4) A Ramazan *et al.* An Update on Ovarian Aging and Ovarian Reserve Tests. Int J Fertil Steril 2016 Jan-Mar; 9(4): 411-415.
- 5) KP Tremellen *et al.* Anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian reserve. Aust NZ J Obstet Gynaecol 2005;45:20-4.
- 6) Medicina della Riproduzione Umana. A Borini, FM Ubaldi. CIC Edizioni Internazionali 2010.
- 7) A De Vet *et al.* Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. Fertil Steril 2002; 77: 357-62.
- 8) AJ Van Rooij *et al.* Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. Fertil Steril 2005; 83: 879-87
- 9) R Fanchin *et al.* Serum anti-müllerian hormone dynamics during controller ovarian hyperstimulation. Hum Reprod 2003; 18:328-32.
- 10) B Almog *et al.* Age-related normograms of serum antimüllerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. Fertil Steril 2011; 95: 2359-2363.
- 11) M Depmann *et al.* Does anti-Müllerian hormone predict menopause in the general population? Results of a prospective ongoing cohort study. Hum Reprod. 2016 Jul;31(7):1579-87.
- 12) D Dewailly *et al.* Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary Hum Reprod Update Vol.22, No.6 pp. 709–724, 2016.
- 13) T Tadros *et al.* New automated antimüllerian hormone assays are more reliable than the manual assay in patients with reduced antral follicle count. Fertil Steril ;106:1800-6.
- 14) K Jayaprakasan *et al.* Three-dimensional ultrasound improves the interobserver reliability of antral follicle counts and facilitates increased clinical work flow. Ultrasound Obstet Gynecol 2008; 31: 439-44.

- 15) A La Marca *et al.* Age-specific nomogram for the decline in antral follicle count throughout the reproductive period. Fertil Steril 2011; 95: 684-688.

*Clinica Ostetrico Ginecologica Università di Udine ** SOC Ostetricia e Ginecologia Ospedali Palmanova-Latisana *** SSD Fisiopatologia della riproduzione umana banca del seme e degli ovociti Ospedale di Pordenone

IL FATTORE UTERO-TUBARICO

Studio della pervietà tubarica

L'accurata valutazione della pervietà tubarica è uno step importante, anche se non universalmente indicato, nel work up diagnostico dell'infertilità in quanto modifica l'iter terapeutico.

Il fattore tubarico, infatti, incide per il 15-30% come causa di infertilità femminile (1) essendo legato a:

- Malattia infiammatoria pelvica
- Endometriosi
- Chirurgia pelvica
- Appendicite
- Gravidanza ectopica

Conseguentemente è mandatorio un test rapido e ben tollerato per assegnare la paziente al trattamento adeguato in stadio precoce.

Gli esami disponibili per la valutazione della pervietà tubarica sono rappresentati da:

- Laparoscopia diagnostica con dye test (cromoscopia o cromoperturbazione)
- Isterosalpingografia (HSG)
- Sonoisterosalpingografia (SIS)

La laparoscopia con dye test rappresenta l'esame gold standard per la valutazione della pervietà tubarica consentendo lo studio di tutta la pelvi e il contemporaneo trattamento di eventuali comorbidità. (2)

L'isterosalpingografia a raggi X è stata tradizionalmente ampiamente utilizzata nella paziente infertile. È un test sufficientemente accurato per l'individuazione della patologia tubarica prossimale, è sicuro, economico, ambulatoriale. Fornisce una buona delineazione della salpinge evidenziando pervietà e occlusione. Tuttavia studi di metanalisi indicano valori di sensibilità e specificità rispettivamente del 0.65 (95% confidence interval [CI]: 0.50-0.78) e 0.83 (95% CI: 0.77-0.88) come test per ostruzione tubarica con un elevato valore predittivo negativo del 94% , ma

positivo del 38%^[3] . In altre parole il blocco tubarico viene confermato in poco più di un terzo dei casi rendendo quindi necessaria una conferma in caso di test positivo.

La sonoisterosalpingografia (SIS o Sono-HSG), tecnica basata sull'utilizzo degli ultrasuoni, è stata proposta come alternativa all'utilizzo della HSG nella valutazione della pervietà tubarica nell'iniziale iter diagnostico della coppia infertile. Sia HSG, sia Sono-HSG sono entrambi ben tollerati, rapidi, senza necessità di ospedalizzazione (4-5), ma quest'ultima presenta l'ulteriore vantaggio di non utilizzare radiazioni ionizzanti, di evitare il rischio di reazioni allergiche allo iodio (6), ma soprattutto permette la contemporanea valutazione della cavità uterina, delle ovaie e del miometrio (7).

La tecnica prevede la diretta iniezione di soluzione salina a livello tubarico dalla cavità uterina, fluido che rappresenti il mezzo per contrastare le tube pervie. L'esame viene eseguito in asepsi, tramite l'ausilio di un catetere a palloncino disteso con 1-2 ml di soluzione fisiologica all'interno dell'orifizio uterino interno, che impedisca il reflusso di liquido all'esterno. Estratto lo speculum, viene posizionata la sonda transvaginale e iniettato lentamente il liquido di contrasto. La fuoriuscita di soluzione dalle fimbrie è vista come un flusso fluido a circondare le ovaie o indirettamente come falda di versamento nella pelvi (8).

A partire dalla fine degli anni'90 diversi studi sono stati pubblicati sull'accuratezza della Sono-HSG nella valutazione della pervietà tubarica e sulla concordanza con HSG. Una metanalisi condotta da Maheaux-Lacroix nel 2014 (9) su 28 studi inclusi, su 1550 donne riporta una sensibilità e una specificità rispettivamente di 0.92 (95%CI 0.82-0.96) e di 0.95 (95%CI 0.90-0.97). La stessa metanalisi non riporta differenze statisticamente significative in termini di sensibilità e specificità rispetto alla HSG.

Diverse modifiche sono state introdotte al fine di migliorare l'accuratezza della valutazione ecografica:

- Utilizzo del doppler e color doppler
- Utilizzo di soluzione salina mista ad aria
- Utilizzo di mezzi di contrasto iperecogeni (HyCoSy) o gel (HyFoSy)
- Utilizzo della tecnica 3D

L'utilizzo del doppler può potenziare la visualizzazione del fluido dalle tube alla pelvi, superando il limite della distinzione di ecogenicità rispetto all'intestino (10-11) e aumentandone l'accuratezza

L'utilizzo di aria mista a soluzione salina consente la formazione di micro bolle che rendono iperecogeno il mezzo di contrasto consentendo la migliore definizione del lume tubarico. Ciò può essere eseguito agitando aria nella salina o iniettandola dopo la stessa. (12-13). Tuttavia la prima limitazione è data dal fatto di essere una tecnica operatore dipendente, risultando accurata solo se eseguita da ecografisti esperti (14). Inoltre In presenza di tube occluse può comunque essere difficoltoso distinguere la tuba dal movimento d'aria intestinale e comunque seguire la tuba in tutto il suo decorso considerando che peraltro le micro bolle perdurano per un intervallo di tempo molto limitato

Allo stesso scopo, e per superare questi ultimi limiti, sono stati introdotti dei mezzi di contrasto iperecogeni che consentano la perfetta definizione del lume tubarico. Mezzi quali Echovist e Levovist, sospensione di microparticelle

di galattosio o Albunex e Optison (a base di albumina) consentono di visualizzare chiaramente il decorso tubarico e la sua pervietà, mentre con l'utilizzo di sola soluzione salina la pervietà viene indirettamente dedotta dal riscontro di liquido periovarico o nel Douglas. Il contrasto della tuba può durare da 5 a 10 min (13). L'isterosalpingo contrastosonografia (HyCoSy) tuttavia non sembra migliorare l'accuratezza della tecnica in modo significativo (9) e il costo dei mezzi ne ha ristretto la diffusione. E' stato da ultimo (2007) introdotto un gel non embriotossico contenente idroetilcellulosa e glicerolo ponendo le basi per una nuova procedura: HyFoSy (da foam: schiuma). Quando il gel viene introdotto in cavità crea una schiuma (da cui il nome della tecnica) che riempie stabilmente la cavità per 10 minuti circa. L'ExEm gel è stato registrato ed approvato CE (european conformity) per la valutazione della pervietà tubarica, ma la sua accuratezza non è stata dimostrata (14-16). Uno studio randomizzato del 2015 (17) non trovava differenze statisticamente significative tra l'utilizzo di mezzo salino e gel, mentre uno studio italiano successivo del 2016 (18) comparava le due tecniche al gold standard laparoscopico dimostrando una maggiore significativa concordanza nell'utilizzo di HyFosy rispetto alla soluzione salina (94% vs 58%). Tali studi, seppur randomizzati, presentano delle numerosità limitate e vanno confermati da studi di maggiore ampiezza. Sono descritte, inoltre, diverse esperienze di utilizzo di una seconda generazione di agenti di contrasto, basata sull'utilizzo di esafluoruro di zolfo (Sono-Vue, già utilizzato in ecocardiografia), un gas che ricostituito in soluzione salina crea delle micro bolle stabili.

Infine diversi studi dimostrano che l'applicazione 3D possa aumentare l'accuratezza della metodica anche in mani meno esperte con valori di sensibilità e specificità rispettivamente dall'84 al 100% e dal 67 al 100%. L'acquisizione 3D consente un minor utilizzo di contrasto, la più agevole valutazione della pervietà tubarica e una migliore tollerabilità. La sezione coronale della cavità fornisce la visualizzazione delle tube lateralmente e la possibilità di ruotare il volume consente di seguire la tuba nello spazio facilitando il riscontro della patologia (idrosalpinge, ascessi..)(16). Una recente metanalisi di 11 studi (19) sull'utilizzo del 3d riporta valori di sensibilità di 0.92 (95% CI 0.89-0.94) e specificità 0.95 (95% CI 0.93-96), ma sottolinea come esista ancora una ampia eterogeneità tra gli studi.

Un altro aspetto rilevante è quello relativo alla tollerabilità, possibili complicazione ed effetti collaterali. In 2 serie di 1153 (4) e di 690 (19) sono-HSG e si è registrato sviluppo di dolore pelvico moderato nel 3.8% delle pazienti, solo nel 2% tale da richiedere antidolorifici e sintomi vaso-vagali nel 3.5% e 0.8% rispettivamente, mentre complicazioni tardive quali febbre, infezione pelviche ed emorragie non si sono verificate. Molti autori, infatti, non raccomandano esami colturali o somministrazione di antibiotici in profilassi.

In conclusione la sono-HSG è un test accurato per la diagnosi di occlusione tubarica con performance non differenti da HSG, ben tollerato, rapido, economico e ambulatoriale. Presenta inoltre il vantaggio di evitare rischio di reazioni allergiche ed esposizione a radiazioni ionizzanti e di fornire ulteriori informazioni sulla cavità uterina, il miometrio, le ovaie.

Sulla base di tali evidenze per lo studio della pervietà tubarica è proponibile quanto segue, come già raccomandato dal National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE 2013) (2):

- Sonoisterosalpingografia, nelle donne senza comorbidità (malattia infiammatoria pelvica, endometriosi, precedenti gravidanze ectopiche, idrosalpinge)

- Isterosalpingografia, nelle donne senza comorbidità ove non vi siano le competenze ecografiche adeguate
- Laparoscopia con dye test ove si pensi vi siano le comorbidità suddette al fine di valutare (e trattare) le eventuali altre patologie pelviche nel medesimo tempo

Studio del fattore uterino

La cavità uterina, l'endometrio, ma anche il miometrio sono fattori determinanti per l'impianto dell'embrione ed una normale placentazione. Pertanto lo studio della cosiddetta "capacità uterina" riveste un ruolo sia durante l'iniziale valutazione diagnostica della coppia infertile sia quando una procedura di procreazione medicalmente assistita (PMA) sia stata programmata.

Infatti lesioni intrauterine si sono dimostrate più comuni nelle donne infertili compromettendo il concepimento spontaneo così come riducendo la pregnancy rate nella riproduzione assistita (2, 20-23). L'incidenza di patologia intrauterina nelle donne prima del primo ciclo di PMA varia dall'11 al 22%, nelle donne con fallimenti ripetuti aumenta al 26-45% (24-25).

L'ecografia pelvica transvaginale fa parte degli esami di primo livello nell'approccio alla paziente, ma l'isteroscopia è comunemente considerata il gold standard per lo studio della cavità uterina e delle sue patologie, consentendone il trattamento. Tecniche attualmente definite alternative o secondarie sono rappresentate da ecografia pelvica 3D, Isterosalpingografia, sonoisterografia. Comunque l'utilizzo dell'isteroscopia come procedura di routine nell'infertilità è ancora dibattuto poiché non vi è un consensus sulla sua efficacia/efficienza nell'incrementare la prognosi delle pazienti infertili. Il NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence 2013) per tale motivo stabilisce che l'isteroscopia non dovrebbe essere offerta se non clinicamente indicata e nella stessa direzione sono le raccomandazioni dell'ESHRE (European Society Human Reproduction and Embriology)) e di ASRM (American Society Of Reproductive Medicine 2012) (26-27).

Una riflessione concerne tuttavia il fatto che vi è una crescente attenzione al "time to pregnancy", definito come concetto essenziale nella riproduzione umana. Il fenomeno sociale di incremento dell'età materna al momento della ricerca di gravidanza è un aspetto cruciale nel work up dell'infertilità introducendo il concetto dell'approccio personalizzato al paziente. In altre parole vi è un interesse crescente e una rilevanza clinica nell'accorciare il tempo alla gravidanza migliorando ogni dettaglio che possa migliorare la prognosi e il successo delle procedure. Come risultato la comunità scientifica ha rivalutato il ruolo dell'isteroscopia nella diagnosi e nel trattamento delle patologie intrauterine.

I dati presenti in letteratura evidenziano che:

- L'isteroscopia presenta una sensibilità prossima al 100% nella diagnosi delle anomalie uterine, costituendo l'esame gold standard nello studio di cavità

- L'isterosalpingografia (HSG) ha una bassa sensibilità con tassi di falsi negativi del 78% e concordanza con isteroscopia di solo 68% (28)
- L'ecografia trasvaginale 2D presenta sensibilità e specificità inferiori rispetto a isteroscopia (89.04 vs 97,2% e 56%vs 92%) (29)
- La sonoisterografia (SIS) è una tecnica mini invasiva, cost-effective e ben tollerata nella diagnostica della patologia uterina e nella valutazione della pervietà tubarica. Una recente metanalisi (30) indica una sensibilità dello 0.88 (95% CI 0.85-90) e specificità dello 0.94 (95% CI 0.93-0.96) nella diagnosi delle anomalie uterine. Inoltre l'accuratezza rimane elevata quando analizzata separatamente per l'individuazione delle specifiche patologie, potendo essere incrementata dall'applicazione 3D.

Vi sono in letteratura 5 metanalisi sull'utilizzo dell'isteroscopia, sia diagnostica, sia operativa nelle pazienti infertili in diversi setting di pazienti per chiarire quale ruolo possa rivestire nel percorso della paziente infertile e con quale timing. (22-23, 31-33)

El Toukhy nel 2008 sulla base di 5 studi evidenzia un beneficio dell'isteroscopia nella pregnancy rate prima di un seguente ciclo di fertilizzazione in vitro (32) (RR = 1.75, 95% CI 1.51-2.03)

Più recentemente Pundir (33) nel 2014 indica che l'isteroscopia eseguita prima del primo ciclo di IVF-ICSI migliora l'outcome con pregnancy rate RR 1.44 95% (1.08-1.92) e live birth rate RR 1.30 95% (1.00-1.67)

Una Cochrane review di Bosteels (22) del 2015 stabilisce che non possa essere esclusa l'efficacia della rimozione isteroscopica dei miomi sottomucosi nell'aumentare la pregnancy rate di donne con infertilità inspiegata, sulla base dell'unico studio randomizzato controllato della Casini, mentre che la polipectomia prima di IUI sia di beneficio nell'aumentare la stessa.

È del 2016 la metanalisi italiana di Di Spiezio Sardo (23) che riporta 2 principali analisi: l'efficacia dell'esecuzione sistematica dell'isteroscopia diagnostica (e in alcuni casi operativa) in ogni stadio del work up per infertilità (primo ciclo o fallimenti ripetuti) in donne con normali esami di screening per patologia uterina (ecografia, SIS, HSG) su pregnancy rate (PR) e live birth rate (LBR), rispetto a non esecuzione di isteroscopia. La seconda valuta l'efficacia dell'isteroscopia operativa in donne infertili rispetto alla sola isteroscopia diagnostica.

1. Vi sono evidenze che l'isteroscopia aumenti LBR (RR 1.48, 95% CI 1.20-1.81) nel caso di fallimenti di impianto, seppure di scarsa qualità. Considerando invece PR le evidenze di media qualità indicano un aumento di PR (RR 1.45, 95% CI 1.26-1.67) sia nelle donne con fallimenti di impianto, sia nel caso di primo ciclo di PMA. È necessario sottolineare che tutti i dati provengono da studi eseguiti in donne già candidate a PMA, non nella diagnostica di base su donne infertili. Comunque questi ultimi risultati, in linea con la metanalisi precedente, possono essere legati a:
 - a. rivelazione di anomalie non diagnosticate con ultrasuoni, SIS o HSG che ostacolano potenzialmente l'impianto, il trattamento delle quali aumenta l'outcome. Come già riportato precedentemente, infatti la accuratezza di tali tecniche è dimostrata essere inferiore e la percentuale di nuove anomalie dimostrate con isteroscopia raggiunge il 50% nelle pazienti infertili

b. beneficio indipendente dal trattamento della patologia intracavitaria. L'irrigazione della cavità può comportare il lavaggio di glicoproteine anti adesive che limitano la recettività endometriale (34) o favorire la lisi di aderenze cervicali/facilitare l'embrio-transfer (35). Ma attualmente con enfasi discusso è il ruolo dell'"endometrial injury" nel ciclo precedente o durante la stimolazione ovarica, nell'aumentare l'outcome delle procedure. È stato ipotizzato che l'azione meccanica sull'endometrio modifichi l'espressione di geni coinvolti nell'impianto (36). Una Cochrane review del 2015 conclude che, sebbene vi siano evidenze di moderata qualità che il danno endometriale prima di PMA aumenti LBR e PR, i dati vadano interpretati con cautela in assenza di trial ben disegnati così come quelli riguardanti endometrial injury e concepimento spontaneo (38). Il Royal college of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) nel dicembre del 2016 conclude che i dati attualmente disponibili possano confermare un benefico effetto della biopsia endometriale (eseguita circa 7 gg prima della stimolazione ormonale) nei ripetuti fallimenti di impianto, ma non nelle donne al primo ciclo.

2. Gli studi inclusi nell'analisi dimostrano che la polipectomia isteroscopica risulti vantaggiosa nel migliorare l'outcome portando ad un 29% di concepimento spontaneo vs 3% dei controlli (40), ma i dati derivano da un unico trial prima di inseminazione. La miomectomia dei fibromi sottomucosi raddoppia la pregnancy rate spontanea(41)

Riguardo a quest'ultimo punto, Il ruolo della fibromatosi sulla fertilità e pertanto il ruolo della miomectomia sugli outcome riproduttivi meriterebbero un capitolo a sé stante. Sinteticamente è dimostrato che i fibromi sottosierosi non impattano sulla fertilità, al contrario dei fibromi sottomucosi la cui rimozione aumenta la pregnancy rate. È maggiormente dibattuto l'effetto dei fibromi intramurali che intuitivamente può essere legato al numero, dimensione e prossimità alla cavità e per la cui rimozione vanno considerati attentamente i rischi chirurgici soprattutto in termini di complicanze ostetriche (31, 42)

In conclusione le evidenze della letteratura riguardo a isteroscopia e infertilità sono:

- Nelle pazienti infertili è elevata la prevalenza di patologie intracavitarie (polipi, miomi, aderenze, malformazioni congenite) ed in particolare nelle pazienti con fallimenti di impianto ripetuti
- Non vi sono evidenze circa il ruolo dell'isteroscopia nella valutazione di base delle coppie infertili
- L'isteroscopia può aumentare la pregnancy rate nelle pazienti in programma per primo ciclo (studi osservazionali) e soprattutto nelle pazienti con ripetuti fallimenti di impianto
- Il trattamento dei miomi sottomucosi aumenta la pregnancy rate spontanea
- La polipectomia isteroscopica ha un ruolo nell'aumentare la fertilità spontanea e la pregnancy rate prima di PMA, ma i dati sono insufficienti per trarre delle evidenze scientifiche. Dibatutto è il management dei nuovi polipi riscontrati durante la stimolazione
- Non vi sono dati sufficienti per il trattamento del setto uterino (31)

Pertanto nel percorso diagnostico della coppia infertile considerando le indicazioni delle maggiori società scientifiche (26-27), del NICE 2013 (2), i risultati delle maggiori metanalisi presentate :

- Nelle pazienti infertili lo studio della cavità e della morfologia uterina rappresenta uno step necessario da eseguire mediante gli esami di screening disponibili (ecografia, SIS) o preferibilmente, laddove possibile o indicato mediante l'utilizzo di ecografia 3D che presenta un maggiore grado di concordanza con isteroscopia (77%, 95%CI 60-84%) (43)
 - Nelle pazienti candidate a PMA in particolar modo nelle pazienti con ripetuti fallimenti di impianto è possibile proporre in prima battuta l'isteroscopia diagnostica dato l'elevato numero di patologie riscontrate e il beneficio teorico a priori rappresentato dalla tecnica stessa
1. Evers JL. Female subfertility. *Lancet* 2002; Jul 13;360(9327):151-9.
 2. Fertility problems: assessment and treatment. CG 156. NICE Guideline 2013. Udate 2016.
 3. Belisle S, Collins JA, Burrows EA, Willan AR. The value of laparoscopy among infertile women with tubal patency. *J Soc Obstet Gynaecol Can.* 1996; 18:326–36
 4. Dessole S, Farina M, Rubattu G, Cosmi E, Ambrosini G, Battista Nardelli G. Side effects and complications of sonohysterosalpingography. *Fertil Steril* 2003; 80:620.
 5. Socolov D, Boian I, Boiculescu L, Tamba B, Anghelache-Lupascu I, Socolov R. Comparison of the pain experienced by infertile women undergoing hysterosalpingo contrast sonography or radiographic hysterosalpingography. *Int J Gynecol Obstet* 2010;111:256–259
 6. Saunders RD, Shwayder JM, Nakajima ST. Current methods of tubal patency assessment. *Fertil Steril* 2011; 95:2171–2179.
 7. Acholonu UC, Silberzweig J, Stein DE, Keltz M. Hysterosalpingography versus sonohysterography for intrauterine abnormalities. *JSLS* 2011; 15:471–474.
 8. Panchal S, Nagori C. Imaging techniques for assesment of tubal status. *J Hum Reprod Sci.* 2014;7(1):2-12
 9. Maheaux-Lacroix S, Boutin A, Moore L, Bergeron Me, Bujold E, Laberge P, Lemyre M, Dodin S . Hysterosalpingosonography for diagnosing tubal occlusion in subfertile women: a sitematic review with meta-analysis. *Human Reprod* 2014; 29(5):953-63
 10. Sladkevicius P, Ojha K, Campbell S, Nargund G. Three-dimensional power Doppler imaging in the assessment of Fallopian tube patency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16:644–647.
 11. Peters AJ, Coulam CB. Hysterosalpingography with color Doppler ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1991; 164:1530–2.[PubMed: 2048599]
 12. Jeanty P, Besnard S, Arnold A, Turner C, Crum P. Air-contrast sonohysterography as a first step assessment of tubal patency. *J Ultrasound Med.* 2000; 19:519–27
 13. Exacoustos C, Di Giovanni A, Szabolcs B, Binder-Reisinger H, Gabardi C, Arduini D. Automated sonographic tubal patency valuation with threedimensional coded contrast imaging (CCI) during hysterosalpingocontrast sonography (HyCoSy). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 4:609–612.
 14. Emanuel MH¹, van Vliet M, Weber M, Exalto N. First experiences with hysterosalpingo-foam sonography (HyFoSy) for office tubal patency testing .*Hum Reprod.* 2012 Jan;27(1):114-7
 15. Van Schoubroeck D, Van den Bosch T, Meuleman C, Tomassetti C, D'Hooghe T, Timmerman D. The use of a new gel foam for the evaluation of tubal patency. *Gynecol Obstet Invest.* 2013;75(3):152-6.

16. Luciano DE, Exacoustos C, Luciano AA. Contrast ultrasonography for tubal patency. *J Minim Invasive Gynecol*. 2014 Nov-Dec;21(6):994-8
17. Lim SL, Jung JJ, Yu SL, Rajesh H. A comparison of hysterosalpingo-foam sonography (HyFoSy) and hysterosalpingo-contrast sonography with saline medium (HyCoSy) in the assessment of tubal patency. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Dec;195:168-72
18. Maria Grazia Piccioni, Lucia Riganelli, Valentina Filippi, Eliana Fuggetta, Vanessa Colagiovanni, Ludovica Imperiale, Jlenia Caccetta, Pierluigi Benedetti Panici, Maria Grazia Porpora. Sonohysterosalpingography: Comparison of Foam and Saline Solution. *J Clin Ultrasound* 2016. Oct 18
19. Savelli L, Pollastri P, Guerrini M, Villa G, Manuzzi L, Mabrouk M, Rossi S, Seracchioli R. Tolerability, side effects, and complications of hysterosalpingocontrast sonography (HyCoSy). *Fertil Steril*. 2009 Oct;92(4):1481-6
20. Taylor E, Gomel V. The uterus and fertility. *Fertil Steril* 2008; 89:1–16.
21. Galliano D, Bellver J, Díaz-García C, Simón C, Pellicer A. ART and uterine pathology: how relevant is the maternal side for implantation? *Hum Reprod Update* 2015; 21:13–38.
22. Bosteels J, Kasius J, Weyers S, Broekmans FJ, Mol BW, D'Hooghe TM. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities.. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 Feb 21;(2):CD009461
23. Di Spiezio Sardo A, Di Carlo C, Minozzi S, Spinelli M, Pistotti V, Alviggi C, De Placido G, Nappi C, Bifulco G. Efficacy of Hysteroscopy in improving reproductive outcomes of infertile couples: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2016; 22 (4):479-496.
24. Karayalcin R, Özyer S, Özcan S, Uzunlar Ö, Gürel B, Moraloglu Ö, Batioglu S. Office hysteroscopy improves pregnancy rates following IVF. *Reprod Biomed Online* 2012; 25:261– 266.
25. Kilic Y, Bastu E, Ergun B. Validity and efficacy of office hysteroscopy before in vitro fertilization treatment. *Arch Gynecol Obstet* 2013; 287:577–581.
26. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE capri workshop group. *Hum Reprod* 2000; 15:723–32.
27. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98:302–307.
28. Taskin EA, Berker B, Ozmen B, Sonmezer M, Atabekoglu C. Comparison of hysterosalpingography and hysteroscopy in the evaluation of the uterine cavity in patients undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2011; 96:349–352.
29. Grimbizis G, Tsolakidis D, Mikos T, Anagnostou E, Asimakopoulos E, Stamatopoulos P, Tarlatzis BC. A prospective comparison of transvaginal ultrasound, saline infusion sonohysterography, and diagnostic hysteroscopy in the evaluation of endometrial pathology. *Fertil Steril* 2010; 94:2720–2725.
30. Seshandri S, El-Tourkhy T, Douiri A, Jayaprakasan K, Khalaf Y. Diagnostic accuracy of saline infusion sonography in the evaluation of uterine cavity abnormalities prior to assisted reproductive techniques: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2015; 21 (2):262-274

31. Bosteels J, Weyers S, Puttemans P, Panayotidis C, Van Herendaal B, Gomel V, Mol BW, Mathieu C, D'Hooghe T. The effectiveness of hysteroscopy in improving pregnancy rates in subfertile women without other gynaecological symptoms: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2010;16:1–11.
32. El-Toukhy T, Sunkara SK, Coomarasamy A, Grace J, Khalaf Y. Outpatient hysteroscopy and subsequent IVF cycle outcome: a systematic review and meta-analysis *Reprod Biomed Online*. 2008 ;16(5):712-9.
33. Pundir J, Pundir V, Omanwa K, Khalaf Y, El-Toukhy T. Hysteroscopy prior to the first IVF cycle: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Bio Med Online* 2014; 28:151–161.
34. Takahashi K, Mukaida T, Tomiyama C, Oka C. High pregnancy rate after hysteroscopy with irrigation in uterine cavity prior to blastocyst transfer in patients who have failed to conceive after blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2000;4:S206.
35. El-Toukhy T, Sunkara S, Khalaf Y. Local endometrial injury and IVF outcome: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Bio Med Online* 2012; 25:345–354.
36. Almog B, Shalom-Paz E, Dufort T, Tolandi T. Promoting implantation by local injury to the endometrium. *Fertil Steril* 2010;94:2026–2029.
37. Nastri CO, Lensen SE, Gibreel A, Raine-Fenning N, Ferriani RA, Bhattacharya S, Martins WP Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Mar 22;(3):CD009517
38. Lensen SE, Manders M, Nastri CO, Gibreel A, Martins WP, Templer GE, Farquhar C Endometrial injury for pregnancy following sexual intercourse or intrauterine insemination *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Jun 14;(6):CD011424. doi: 10.1002/14651858.CD011424.pub2.
39. Royal college of Obstetricians and Gynaecologists. Local Trauma (endometrial scratch): a treatment strategy to improve implantation rates. Decembre 2016
40. Perez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, Engels V. Endometrial polyps insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod* 2005;20:1632–1635.
41. Casini ML, Rossi F, Agostini R, Unfer V. Effects of the position of fibroids on fertility. *Gynecol Endocrinol* 2006;22:106–109.
42. Pritts EA¹, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril*. 2009 Apr;91(4):1215-23.
43. Negm SMM, Kamel RA, Abuhamila FA. Three-Dimensional sonohysterography compared with vaginoscopic Hysteroscopy for evaluation of the uterine cavity in patients with recurrent implantation failure in in vitro fertilization cycles. *J Minim Invasive Gynecol* 2012;19:503–508.

Stile di vita e fertilità femminile

La fertilità declina con l'età in entrambi i sessi, ma il calo è molto più rapido nella donna.

La possibilità di concepimento nella donna è massima tra i 20 e i 25 anni. Le possibilità di gravidanza declinano progressivamente negli anni successivi. Dopo i 35 anni il calo è esponenziale, dopo i 40 anni la probabilità è estremamente ridotta e a 45 anni è virtualmente esaurita.

Ciò è legato sia al progressivo esaurimento della quantità di ovociti contenuti all'interno dell'ovaio (riserva ovarica), sia al progressivo deterioramento dell'integrità cromosomica e strutturale degli stessi.

Le tecniche di riproduzione assistita (ART) sono in grado di recuperare solo in piccola parte il potenziale perso a causa dell'età [1].

L'età non è un fattore di rischio modificabile, ma un'informazione precoce e completa sulla relazione tra invecchiamento ovarico e possibilità di gravidanza permetterebbe alle donne una maggiore consapevolezza nell'orientare le proprie scelte di vita [2].

L'età sempre più avanzata alla quale le donne iniziano a desiderare una gravidanza ha progressivamente aumentato la finestra temporale nella quale numerosi fattori legati allo stile di vita possono esercitare la propria influenza sull'apparato riproduttivo, sui gameti, sullo stato di salute generale.

Di seguito saranno trattati alcuni dei fattori di rischio riproduttivo legati allo stile di vita. Tali fattori sono spesso modificabili ed è quindi possibile adottare comportamenti preventivi in grado di limitare i danni sul potenziale riproduttivo.

Restrizioni dietetiche ed eccessivo esercizio fisico

La funzione riproduttiva ed il metabolismo sono strettamente connessi. In generale un'alimentazione subottimale si associa ad una riduzione della frequenza delle ovulazioni, fino all'amenorrea, un ipoeostrogenismo relativo o assoluto, un ridotto sviluppo endometriale. Allo stesso modo, l'eccessivo esercizio fisico si associa ad alterazioni della secrezione di gonadotropine e a disturbi ovulatori, con o senza la presenza di amenorrea.

Il peso corporeo è un indice approssimativo dello stato nutrizionale e dell'assetto metabolico ma, insieme con il Body Mass Index (BMI: altezza in metri/peso in Kg²), rappresenta una variabile estremamente facile da rilevare.

Il peso corporeo in età adolescenziale, momento in cui l'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio raggiunge la maturità funzionale, è cruciale. Studi epidemiologici hanno dimostrato che essere sottopeso (BMI inferiore a 18,5) all'età di 18 anni comporta un prolungamento del 25% nel tempo di ricerca di gravidanza rispetto alle coetanee normopeso [3]. Un caso estremo, ancorchè poco frequente, è dato dai disturbi dell'alimentazione come l'anoressia nervosa. Questi disturbi sono significativamente più frequenti fra le donne che soffrono di subfertilità [4]

Una moderata e controllata attività fisica è associata ad un lieve aumento della fertilità [5]. Tuttavia, l'esercizio fisico può essere associato ad un calo della fertilità, quando agisce come cofattore causale di un basso peso corporeo. L'eccessivo esercizio fisico è associato *per se* ad una riduzione della fertilità. Esiste una correlazione positiva tra intensa attività fisica ed il prolungamento del tempo di ricerca di gravidanza [6]. Un'attività cardiovascolare intensa ripetuta per più di 4 ore alla settimana per periodi che vanno da 1 a 9 anni è stata associata ad una riduzione del 40% del successo di una fecondazione assistita [7].

Eccesso Ponderale

Il sovrappeso (definito come un BMI superiore a 25) e l'obesità (definita da un BMI > 30) sono correlati sia ad una riduzione della fertilità spontanea, sia ad un minore successo dei trattamenti di ART. L'obesità si associa ad iperinsulinemia, ad un'alterazione delle citochine, deponente per uno stato di infiammazione cronica, ed all'aumento di numerosi fattori di crescita. Le conseguenze negative di un tale assetto biochimico si riflettono sia sul numero di ovulazioni, in particolare in associazione alla Sindrome dell'Ovaio Policistico (PCOS) [8], sia sulla qualità degli ovociti, non correlata alle aneuploidie [9], e degli embrioni, sia sulla recettività dell'endometrio [10]. Studi di coorte hanno dimostrato che per ogni aumento di 5 Kg dall'età di 18 anni si verifica un aumento del 5% del tempo medio di ricerca di prole [3, 11]. A questo va aggiunta l'aumentata incidenza di abortività spontanea e di complicanze ostetriche.

La maggior parte degli studi pubblicati depone per un effetto positivo del calo ponderale sulla fertilità in vivo e dopo l'applicazione di ART [12]. E' tuttavia da notare che non sono stati fino ad oggi realizzati estesi studi prospettici controllati, e che non è assolutamente stato stabilito un BMI soglia sopra il quale sia possibile identificare un chiaro aumento del rischio.

Un recente studio prospettico ha dimostrato che, nell'ambito della fecondazione assistita, un programma comportamentale e dietetico di 6 mesi, applicato in donne infertili affette da obesità, non è in grado di aumentare significativamente i risultati del trattamento di ART [13].

I divergenti risultati degli studi citati possono in parte essere spiegati dal fatto che il tipo di obesità non è mai preso in considerazione (l'obesità di tipo tronco-addominale o "centrale" ha delle implicazioni metaboliche molto più gravi di quella gluteo-femorale o "periferica"), dall'alto indice di drop-out che i programmi di calo ponderale implicano (fino

ad un quarto dei soggetti [14]), e dal fatto che in età riproduttiva avanzata il potenziale effetto negativo dell'obesità è mitigato dal preponderante effetto dell'età per se [15].

Appare evidente che in realtà lo stato di obesità dovrebbe essere evitato fin dall'adolescenza, per preservare le proprie potenzialità riproduttive. Una volta instaurato lo stato di obesità, il calo ponderale è ovviamente auspicabile, ma la misura della reale efficacia è al momento ancora da verificare. Il problema è di non poca rilevanza, considerando che nel 2010 circa l'11% degli adulti italiani erano obesi, con un rapporto a sfavore delle donne di 5/1 [16].

Al contrario, nelle donne con la PCOS l'impatto del sovrappeso e dell'obesità è più caratterizzato. In queste donne l'eccesso ponderale si associa costantemente ad iperinsulinemia e la correlazione con anovularietà, complicanze ostetriche come diabete gestazionale, ipertensione indotta dalla gravidanza e ipertensione gravidica è provata [17]. In questo gruppo di pazienti un programma di intervento dietetico associato ad esercizio fisico è in grado di ottenere un miglioramento significativo dell'outcome riproduttivo dopo ART [18].

Fattori psicologici

Lo stress, fisico, sociale o puramente psicologico, rappresenta un disturbo in netta crescita nei paesi occidentali. La sterilità di per sé ingenera stress in relazione alle pressioni familiari, alle procedure diagnostiche, ai trattamenti, ai fallimenti, ai desideri frustrati nonché al carico economico a cui si associa [19].

Disturbi correlati allo stress psicologico, quali stati d'ansia o depressione, interessano circa un terzo delle donne infertili [20]. Ricevere istruzioni riguardanti le modalità con cui gestire efficacemente le conseguenze psicologiche o semplicemente trovare un supporto da parte dell'equipe sanitaria può fare la differenza per donne che si sottopongono a trattamenti per l'infertilità. E' stato infatti dimostrato come il tasso di gravidanza sia più alto in donne inserite in gruppi di intervento cognitivo-comportamentale o anche semplicemente in gruppi di supporto rispetto a donne che non ricevano alcun tipo di intervento psicologico [21]. Le donne che ricevono supporto e counselling vanno incontro ad una riduzione dei loro livelli di ansia e depressione, ed incrementano le loro possibilità di ottenere una gravidanza e di portarla a termine [22]. Sembra infatti che il tasso di fecondazione ovocitaria decresca proporzionalmente al livello di stress e che un tono positivo dell'umore aumenti le possibilità di portare a termine la gravidanza. Al contrario, alti livelli di ansietà sembrano aumentare il rischio di morte endouterina [23].

Il background fisiopatologico di tali associazioni è di difficile individuazione. Un ruolo sembra essere svolto da parte degli ormoni mediatori dello stress, che interferiscono con l'asse riproduttivo a diversi livelli. E' noto come eventi stressanti acuti possano alterare la pulsilità del GnRH, interferendo con i meccanismi ovulatori a livello centrale e riducendo la fertilità spontanea. Un interessante studio ha recentemente messo in evidenza

come i livelli di alfa-amilasi, ma non quelli del cortisolo e dell'adrenalina, siano negativamente correlati alla fertilità, probabilmente attraverso un'alterazione del flusso sanguigno nelle salpingi [24]. Infine, ci sono alcune evidenze a favore di un legame tra stress psicologico, flogosi e stress ossidativo a livello del microambiente endometriale.

Come recentemente evidenziato da una metanalisi riguardante l'effetto degli interventi psicologici di supporto sui risultati dell'IVF, per quanto esso risulti globalmente positivo, sono tuttavia necessari ulteriori studi per confermarne i benefici e per indicare la tipologia di intervento più adatta nelle diverse fasi di trattamento dell'infertilità [25].

Fumo di sigaretta

In Italia i fumatori sono 10,9 milioni, il 20,8% della popolazione. Si stima che tale fenomeno interessi 4,6 milioni di donne (il 16,9% della popolazione femminile).

L'analisi della prevalenza dell'abitudine al fumo di sigaretta tra gli uomini e le donne in base all'età mostra che la percentuale di fumatori è superiore a quella delle fumatrici in tutte le fasce di età. Nella fascia di età compresa tra i 25 e 44 anni, e pertanto nella fase della vita più importante ai fini riproduttivi, si registra la prevalenza maggiore di fumatori in entrambi i sessi (22,4% delle donne e 30,7% degli uomini). Il consumo medio di sigarette al giorno si attesta intorno alle 13 sigarette. Oltre il 75% di fumatori consuma più di 10 sigarette al giorno.

E' ben noto come il fumo di sigaretta eserciti un impatto negativo sulla fertilità. Sebbene i meccanismi attraverso cui tale effetto viene prodotto siano ancora oggi oggetto di studio, è unanimemente riconosciuta la necessità di indirizzare i pazienti in età fertile verso la cessazione di tale abitudine.

Le donne fumatrici presentano un rischio maggiore di essere inferili (OR 1.6 C.I. 1.34-1.91) e un aumento del rischio di prolungamento oltre i 12 mesi del tempo necessario ad ottenere una gravidanza (OR 1.42 CI 1.27-1.58). Inoltre il fumo di sigaretta è associato a tassi di successo della fecondazione in vitro più bassi e ad un esordio più precoce della menopausa.

In una recente meta-analisi che comprende 21 studi riguardanti gli effetti del fumo sui risultati della fecondazione in vitro, il tabagismo è stato associato ad una ridotta possibilità di gravidanza clinica (OR 0,56 CI 0,43-0,73), ad un più alto rischio di gravidanza ectopica e aborto spontaneo, e ad un più bassa possibilità di nati vivi (OR 0.54 CI 0,30-0,99) [26].

Nonostante alcuni aspetti rimangano controversi, gli studi attualmente disponibili hanno dimostrato come il fumo di sigaretta abbia effetti deleteri su tutte le fasi delle procedure di fecondazione in vitro: risposta ovarica, numero di ovociti recuperati, tasso di fecondazione e di impianto

Il fumo di sigaretta è associato ad un rischio di anticipazione della menopausa di circa 2 anni [27]. Livelli di FSH più elevati sono riportati nelle fumatrici. Inoltre la riserva ovarica valutata mediante AMH risulta ridotta nelle fumatrici rispetto alle non fumatrici [28]. Alcuni dei meccanismi coinvolti nella riduzione del patrimonio follicolare sono l'aumento dello stress ossidativo, l'aumento della apoptosi cellulare, l'anormale cross-talk tra ovocita e cellule della granulosa, ed anomalie nucleari dell'ovocita.

Tra i composti contenuti nel fumo di sigaretta, alcuni esercitano l'attività di interferenti endocrini [29]. Le fumatrici presentano un anormale profilo endocrino caratterizzato da più alti livelli di testosterone [30], incremento dei livelli di FSH (Cooper et al., 1995) e riduzione dei livelli di estradiolo durante la stimolazione ovarica in IVF [31]. Il fumo di sigaretta è quindi in grado di interferire con la steroidogenesi ovarica, riducendo la sintesi di estradiolo e di progesterone (Barbieri et al, 1986; Osawa et al, 1990; Piasek e Laskey, 1994; Bodis et al., 1997; Göcze et al., 1999; Sanders et al., 2002; Vidal et al., 2006)

L'ipotesi che anche le salpingi possano essere un bersaglio del fumo di sigaretta è emersa dall'osservazione di un aumento del tasso di gravidanze ectopiche nelle pazienti fumatrici. Tale rischio sembra essere direttamente proporzionale al numero di sigarette fumate [32]. A conferma di tale ipotesi, studi in vitro in modelli animali e su salpingi umane suggeriscono che il fumo possa avere conseguenze negative sulla funzione tubarica a diversi livelli: alcuni componenti contenuti nel fumo di sigaretta hanno effetti tossici sulla quantità e qualità delle cellule ciliate, sulla motilità tubarica e sull'interazione tra le fimbrie e la superficie ovarica [33]. Per quanto smettere di fumare risulti vantaggioso per la funzione delle tube, alcune evidenze suggeriscono la possibilità di lesioni croniche irreversibili delle salpingi.

Le donne fumatrici presentano inoltre alterazioni dei meccanismi d'impianto dell'embrione : alcuni studi sui tassi di successo dell'IVF hanno riportato percentuali di impianto più basse nelle fumatrici rispetto alle non fumatrici, anche se i risultati sono controversi (Winter et al., 2002; Freour et al., 2008). Per quanto il fumo sia probabilmente in grado di esercitare effetti negativi sull'embrione a livello cromosomico, si stanno accumulando evidenze in favore di un'influenza diretta anche sull'endometrio: utilizzando modelli di ovodonazione, Soares et al. (2007) ha riportato variazioni nei tassi di impianto dipendenti dal numero di sigarette fumate dalla ricevente (25,8 nelle pazienti che fumavano > 10 sigarette/die vs 32,3% nelle non fumatrici). Diversi componenti del fumo di sigaretta (in particolare il monossido di carbonio e la nicotina) sono stati inoltre individuati come responsabili di alterazioni della neoangiogenesi endometriale, della migrazione ed invasione trofoblastica, del flusso nelle arterie uterine e spirali, e della contrattilità miometriale. L'insieme di tali effetti rende conto dell'associazione tra fumo di sigaretta ed aumento del tasso naturale di aborto.

In conclusione, l'esposizione al fumo di sigaretta danneggia la funzione riproduttiva a diversi livelli: follicologenesi, steroidogenesi, prime fasi di sviluppo embrionario, funzione tubarica, microambiente endometriale ed impianto. Restano a tutt'oggi da chiarire come la sensibilità individuale, i tempi e l'intensità dell'esposizione, nonché l'interazione con altri agenti ambientali possano modulare l'insieme di tali azioni. Tuttavia, dal momento che la maggior parte degli effetti dannosi sulla fertilità appare reversibile entro 1 anno, un accurato counselling e l'indicazione alla cessazione dall'abitudine al fumo risultano auspicabili in tutti gli individui in età riproduttiva, ed in particolare nelle coppie infertili.

Alcool

Ci sono molti studi che hanno messo in relazione l'assunzione di alcool e la riduzione della fertilità. E' stato dimostrato come le donne che assumono grandi quantità di alcool abbiano un rischio maggiore di sottoporsi ad accertamenti per sterilità rispetto a quelle che ne assumono quantità moderate ($RR=1,59, CI\ 1,09-2,31$) o minime ($RR0,64; CI\ 0,46-0,90$) (Eggert J Fertil Steril, 2004).

Il confronto tra i diversi studi su tale argomento così come l'identificazione di una eventuale relazione dose/effetto sono ostacolati dalla mancanza in letteratura di una reale standardizzazione delle quantità di alcool ingerite. Dosi che vanno da un "drink standard" (14 g di alcool, 1 bicchiere di vino o 1 birra) a settimana a 5 "drink standard" al giorno possono avere effetti variabili: prolungamento del tempo di ricerca gravidanza ($P = .04 ; 95\% CI\ 0,85-1,10$) (Mutsaerts MA Hum Reprod 2012), riduzione del tasso di concepimento (Hakim RB, Fertil Steril 1998), riduzione del tasso di impianto, aumento del rischio di aborto spontaneo ($OR\ 4.84$) (Rasch V, Fertil Steril 1998) e deficit della fase luteale. I ricercatori ritengono che questi effetti possano essere causati da fluttuazioni ormonali, quali l'aumento dei livelli di estrogeni, con conseguente riduzione della secrezione di FSH. L'insieme di tali alterazioni sono ritenute almeno in parte responsabili dell'inibizione della follicologenesi e dell'ovulazione, sebbene alcuni meccanismi legati a tale fenomeno rimangano tuttora oggetto di studio (Eggert J Fertil Steril 2004; Gill J Alcohol 2000).

Caffeina

La caffeina è un antagonista del recettore dell'adenosina e stimolante del sistema nervoso centrale a breve durata d'azione. Dal punto di vista riproduttivo l'assunzione di caffeina risulta associata ad una riduzione dei livelli di estrogeni e progesterone in fase luteale (Schliep KC Am J Clin Nutr, 2012) e ad un aumento del rischio di cicli mestruali di breve durata (< 25 giorni) [Lawson C Am J Epidemiol, 1999]. Altri autori hanno tuttavia evidenziato come la caffeina possa

avere effetti stimolanti sull'ovulazione (Kapidaki M Epidemiology, 1995). Nelle donne, la relazione tra assunzione di caffeina e fertilità è stata ampiamente studiata, ma con risultati contrastanti. Alcuni studi prospettici hanno trovato una scarsa relazione tra l'assunzione di caffeina ed il potenziale fertile (Hatch E Epidemiol, 2012), mentre altri hanno riportato una relazione inversa [Jensen TK Reprod Toxicol, 1998, Bolumar F Am J Epidemiol, 1997) o, in rarissimi casi, diretta (Florack EI Prev Med, 1994). Gli studi più recenti suggeriscono un scarso rilievo della caffeina nell'influenzare la fertilità. Tali controversie potrebbero essere legate al variabile introito di caffeina analizzato nei diversi trials. Infatti, sembra che l'effetto negativo sulla fertilità sia più chiaramente osservabile nei casi di assunzione di caffeina a dosaggi elevati (> 400 mg/die) (Jansen TK, Reprod Toxicology 1998). Parimenti, l'associazione tra assunzione di caffeina e tasso di aborto sembra essere dose-dipendente, in particolare per quantità giornaliere al di sopra dei 150mg (151 mg-300 mg: OR 3.045; 95% CI: 1.237–7.287, $p = 0.012$; > 300 mg; OR 16.106; 95% CI 6.547–39.619, $p < 0.00$;) (Cnattingius S, NEJM 2000). Sembra pertanto ragionevole suggerire che l'assunzione di caffeina non ecceda i 300 mg/die (1 tazzina di caffè contiene circa 90mg di caffeina).

Droghe

Gli studi sugli effetti delle sostanze ad uso voluttuario sulla fertilità umana sono scarsi, a causa di ostacoli di carattere etico, omissioni da parte delle pazienti e bias legati alle caratteristiche della popolazione, quali, ad esempio, il basso livello socioeconomico (Anderson K, Obstet Gynaecol 2010).

La marijuana, una delle droghe più comunemente usate nel mondo, sembra agire negativamente sulla funzione riproduttiva sia a livello centrale che periferico attraverso i cannabinoidi in essa contenuti. Le donne che fanno uso di marijuana presentano un rischio di sterilità primaria aumentato rispetto alla popolazione generale (RR 1.7; 95% CI 1.0-3.0) (Mueller BA, Epidemiology 1990). Tale sostanza è in grado di esercitare un impatto negativo sulla regolazione ormonale, in particolare sulla secrezione di LH, soprattutto nei primi periodi di assunzione (Park B, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2004). La marijuana ed i suoi cannabinoidi esercitano inoltre un effetto negativo sulla motilità tubarica, sullo sviluppo fetale e placentare, e possono persino causare morte endouterina (Battista N., J of Neuroendocrinol 2008).

Un'altra droga comunemente usata è la cocaina, uno stimolante del sistema nervoso centrale e periferico che causa effetti vasocostrittivi e anestetici. Il meccanismo di azione si basa sull'inibizione del re-uptake dei neurotrasmettitori, andando ad influenzare l'umore ed il comportamento (Gold MS, Miller NS: Cocaine and crack: Neurobiology. Substance Abuse: A Comprehensive Textbook: Third Edition. 1997, Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins, 195-218). I dati in letteratura riguardanti l'effetto di tale sostanza sulla fertilità femminile sono scarsi, ma è stato riportato che la sua assunzione possa essere correlata ad una ridotta risposta ovarica alle gonadotropine ed al distacco di placenta (Hulse GK, Addiction 1998; Thyer AC J Soc Gynecol Investig. 2001)

Gli oppiacei comprendono un altro gruppo di droghe illegali. Sostanze come il metadone e l'eroina causano sedazione e riducono la percezione del dolore influenzando diversi neurotrasmettitori. Fatta eccezione per alcune evidenze sull'aumentato rischio di distacco di placenta, non esistono studi sulle conseguenze dell'assunzione di tali sostanze sulla fertilità femminile.

Lavoro e Hobby

Lo stress fisico è implicato in una riduzione della fertilità. Studi di popolazione hanno dimostrato che la ricerca di un figlio è significativamente più lunga in donne che lavorano per più di 32-40 ore alla settimana rispetto a donne che lavorano per meno ore [34, 35]. Il meccanismo patogenetico potrebbe risiedere nel livello di distress, in grado di alterare la funzione endocrina dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio.

Il tipo di lavoro od hobby può esporre l'organismo ad aumentate concentrazioni di inquinanti ambientali oggi riconosciuti come possibili limitanti della fertilità. Sono in particolare implicati i cosiddetti interferenti endocrini, in grado di modulare l'attività degli ormoni riproduttivi, in maniera non dose dipendente e varia da individuo a individuo [36].

Contraccezione

La preservazione della salute riproduttiva implica anche un corretto e precoce ricorso alla contraccezione [34]. Le utilizzatrici di condom e/o contraccettivi orali hanno un time-to-pregnancy più breve delle non utilizzatrici [37].

Per quanto riguarda i metodi di barriera, come il condom, il vantaggio consiste nella prevenzione delle malattie sessualmente trasmesse, alcune delle quali sono in grado di compromettere l'anatomia e la funzionalità delle tube, inducendo sterilità. La patologia infettiva più frequente e temibile è data dall'infezione pelvica (PID) da Chlamydia Trachomatis. I fattori di rischio associati alla PID sono la presenza di multipli partners, l'età giovane, l'abitudine al fumo di sigaretta e l'utilizzo di droghe non legali [38].

I benefici non contraccettivi degli estroprogestinici sono stati ampiamente provati [39].

I contraccettivi orali (CO), riducendo il numero di cicli ovulatori (mai stati così numerosi, data la forte riduzione del numero di gravidanze/donna negli ultimi decenni), e riducendo la quantità di flusso mestruale (in particolare se assunti in regimi estesi, con riduzione degli intervalli pill-free), svolgono un'azione protettiva nei confronti della malattia

endometriosica, spesso causa di infertilità [40], sia per l'effetto negativo sulla riserva ovarica, sia per l'effetto distruttore sulle tube, sia per un putativo effetto negativo sulla recettività endometriale.

Le utilizzatrici di CO sono inoltre a minor rischio di iperplasia e poliposi dell'endometrio, nonché di sviluppo di cisti ovariche disfunzionali, condizioni anch'esse correlate ad ipofertilità.

L'uso di CO è inoltre correlato ad una riduzione dell'incidenza di cancro endometriale, cancro ovarico e cancro coloretale.[39].

Nonostante i provati benefici l'utilizzo dei CO è condizionato dalla diffusione di informazioni non corrette sugli effetti collaterali e le potenziali conseguenze a lungo termine. E' necessaria una estesa opera di informazione per correggere alcuni pregiudizi che implicano falsamente una riduzione della fertilità con l'uso di contraccezione ormonale.

Timing e frequenza dei rapporti sessuali

Sono diffuse informazioni, non sempre corrette, riguardo al momento migliore per i rapporti, alla frequenza degli stessi. In generale una frequenza coitale a giorni alterni non offre significativi vantaggi su una frequenza quotidiana. Se la frequenza è limitata ad un rapporto alla settimana la probabilità di concepimento si riduce significativamente [41]. La sincronizzazione dei rapporti in base al momento dell'ovulazione è associata ad un aumento dello stress e non offre particolari vantaggi in donne che hanno cicli mestruali regolari. Le coppie dovrebbero essere informate del fatto che la probabilità di gravidanza aumenta con la frequenza dei rapporti (essendo massima per rapporti a giorni alterni), ma che la frequenza dei rapporti dovrebbe essere decisa in base alle loro attitudini e preferenze, onde evitare un aumento del livello di distress [42].

1. Leridon, H., Can assisted reproduction technology compensate for the natural decline in fertility with age? A model assessment. Hum Reprod, 2004. 19(7): p. 1548-53.
2. Habbema, J.D., M.J. Eijkemans, et al., Realizing a desired family size: when should couples start? Hum Reprod, 2015. 30(9): p. 2215-21.
3. Gaskins, A.J., J.W. Rich-Edwards, et al., Association of Fecundity With Changes in Adult Female Weight. Obstet Gynecol, 2015. 126(4): p. 850-8.

4. Freizinger, M., D.L. Franko, et al., The prevalence of eating disorders in infertile women. *Fertil Steril*, 2010. 93(1): p. 72-8.
5. McKinnon, C.J., E.E. Hatch, et al., Body mass index, physical activity and fecundability in a North American preconception cohort study. *Fertil Steril*, 2016.
6. Wise, L.A., K.J. Rothman, et al., A prospective cohort study of physical activity and time to pregnancy. *Fertil Steril*, 2012. 97(5): p. 1136-42.e1-4.
7. Morris, S.N., S.A. Missmer, et al., Effects of lifetime exercise on the outcome of in vitro fertilization. *Obstet Gynecol*, 2006. 108(4): p. 938-45.
8. Rich-Edwards, J.W., M.B. Goldman, et al., Adolescent body mass index and infertility caused by ovulatory disorder. *Am J Obstet Gynecol*, 1994. 171(1): p. 171-7.
9. Goldman, K.N., B. Hodes-Wertz, et al., Association of body mass index with embryonic aneuploidy. *Fertil Steril*, 2015. 103(3): p. 744-8.
10. Rhee, J.S., J.L. Saben, et al., Diet-induced obesity impairs endometrial stromal cell decidualization: a potential role for impaired autophagy. *Hum Reprod*, 2016. 31(6): p. 1315-26.
11. Ramlau-Hansen, C.H., A.M. Thulstrup, et al., Subfecundity in overweight and obese couples. *Hum Reprod*, 2007. 22(6): p. 1634-7.
12. Sim, K.A., S.R. Partridge and A. Sainsbury, Does weight loss in overweight or obese women improve fertility treatment outcomes? A systematic review. *Obes Rev*, 2014. 15(10): p. 839-50.
13. Mutsaerts, M.A., A.M. van Oers, et al., Randomized Trial of a Lifestyle Program in Obese Infertile Women. *N Engl J Med*, 2016. 374(20): p. 1942-53.
14. Mutsaerts, M.A., W.K. Kuchenbecker, et al., Dropout is a problem in lifestyle intervention programs for overweight and obese infertile women: a systematic review. *Hum Reprod*, 2013. 28(4): p. 979-86.
15. Koning, A.M., M.A. Mutsaerts, et al., Complications and outcome of assisted reproduction technologies in overweight and obese women. *Hum Reprod*, 2012. 27(2): p. 457-67.
16. Ministero della Salute. *Obesità*. 11/6/2016]; Available from: <http://www.salute.gov.it/portale/salute>.
17. Doherty, D.A., J.P. Newnham, et al., Implications of polycystic ovary syndrome for pregnancy and for the health of offspring. *Obstet Gynecol*, 2015. 125(6): p. 1397-406.
18. Legro, R.S., W.C. Dodson, et al., Randomized Controlled Trial of Preconception Interventions in Infertile Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015. 100(11): p. 4048-58.
19. Benyamini, Y., M. Gozlan and E. Kokia, Variability in the difficulties experienced by women undergoing infertility treatments. *Fertil Steril*, 2005. 83(2): p. 275-83.
20. Hall, E. and V.K. Burt, Male fertility: psychiatric considerations. *Fertil Steril*, 2012. 97(2): p. 434-9.
21. Domar, A.D., D. Clapp, et al., Impact of group psychological interventions on pregnancy rates in infertile women. *Fertil Steril*, 2000. 73(4): p. 805-11.
22. Terzioğlu, F., Investigation into effectiveness of counseling on assisted reproductive techniques in Turkey. *J Psychosom Obstet Gynaecol*, 2001. 22(3): p. 133-41.
23. Klonoff-Cohen, H., E. Chu, et al., A prospective study of stress among women undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril*, 2001. 76(4): p. 675-87.
24. Louis, G.M., K.J. Lum, et al., Stress reduces conception probabilities across the fertile window: evidence in support of relaxation. *Fertil Steril*, 2011. 95(7): p. 2184-9.
25. Frederiksen, Y., I. Farver-Vestergaard, et al., Efficacy of psychosocial interventions for psychological and pregnancy outcomes in infertile women and men: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 2015. 5(1): p. e006592.
26. Waylen, A.L., M. Metwally, et al., Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 2009. 15(1): p. 31-44.
27. Jick, H. and J. Porter, Relation between smoking and age of natural menopause. Report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program, Boston University Medical Center. *Lancet*, 1977. 1(8026): p. 1354-5.
28. Freour, T., D. Masson, et al., Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reprod Biomed Online*, 2008. 16(1): p. 96-102.

29. Mlynarcikova, A., M. Fickova and S. Scsukova, Ovarian intrafollicular processes as a target for cigarette smoke components and selected environmental reproductive disruptors. *Endocr Regul*, 2005. 39(1): p. 21-32.
30. Barbieri, R.L., P.M. Sluss, et al., Association of body mass index, age, and cigarette smoking with serum testosterone levels in cycling women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2005. 83(2): p. 302-8.
31. Van Voorhis, B.J., J.D. Dawson, et al., The effects of smoking on ovarian function and fertility during assisted reproduction cycles. *Obstet Gynecol*, 1996. 88(5): p. 785-91.
32. Karaer, A., F.A. Avsar and S. Batioglu, Risk factors for ectopic pregnancy: a case-control study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2006. 46(6): p. 521-7.
33. Talbot, P. and K. Riveles, Smoking and reproduction: the oviduct as a target of cigarette smoke. *Reprod Biol Endocrinol*, 2005. 3: p. 52.
34. Mutsaerts, M.A., H. Groen, et al., The influence of maternal and paternal factors on time to pregnancy--a Dutch population-based birth-cohort study: the GECKO Drenthe study. *Hum Reprod*, 2012. 27(2): p. 583-93.
35. Gaskins, A.J., J.W. Rich-Edwards, et al., Work schedule and physical factors in relation to fecundity in nurses. *Occup Environ Med*, 2015. 72(11): p. 777-83.
36. Gore, A.C., V.A. Chappell, et al., EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr Rev*, 2015. 36(6): p. E1-e150.
37. Revonta, M., J. Raitanen, et al., Health and life style among infertile men and women. *Sex Reprod Healthc*, 2010. 1(3): p. 91-8.
38. Mitchell, C. and M. Prabhu, Pelvic inflammatory disease: current concepts in pathogenesis, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin North Am*, 2013. 27(4): p. 793-809.
39. Bahamondes, L., M. Valeria Bahamondes and L.P. Shulman, Non-contraceptive benefits of hormonal and intrauterine reversible contraceptive methods. *Hum Reprod Update*, 2015. 21(5): p. 640-51.
40. Zorbas, K.A., K.P. Economopoulos and N.F. Vlahos, Continuous versus cyclic oral contraceptives for the treatment of endometriosis: a systematic review. *Arch Gynecol Obstet*, 2015. 292(1): p. 37-43.
41. Wilcox, A.J., C.R. Weinberg and D.D. Baird, Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *N Engl J Med*, 1995. 333(23): p. 1517-21.
42. Optimizing natural fertility: a committee opinion. *Fertil Steril*, 2013. 100(3): p. 631-7.

AMENORREA

Introduzione

L'amenorrea è un segno clinico di frequente riscontro nella pratica clinica, che può costituire l'espressione di lievi disfunzioni delle strutture che sovrintendono alla corretta ciclicità mestruale o l'epifenomeno di più gravi e complesse condizioni cliniche. Con il termine di amenorrea si definisce l'assenza di mestruazioni spontanee per un periodo di almeno 90 giorni o, secondo alcune classificazioni, di almeno 180 giorni. Occorre differenziare le amenorree fisiologiche (presenti in alcune fasi della vita della donna, quali l'età pre-puberale, la gravidanza e la post-menopausa) dalle amenorree patologiche. La prevalenza di queste ultime si aggira intorno al 3-4%.

Le amenorree patologiche sono classificabili in base ai tre seguenti criteri:

- a) Epoca di comparsa**
 - a. Amenorrea primaria
 - b. Amenorrea secondaria
- b) Livello delle gonadotropine nel circolo sanguigno**
 - a. Ipogonadotrope
 - b. Normogonadotrope
 - c. Ipergonadotrope
- c) Sito di alterazione**
 - a. Ipotalamiche
 - b. Ipofisarie
 - c. Ovariche
 - d. Uterine.

Fra le varie classificazioni, quella che distingue le amenorree in base all'epoca di comparsa è stata per lungo tempo la più utilizzata, anche per le differenze patogenetiche, terapeutiche e prognostiche che distinguono le amenorree primarie da quelle secondarie.

L'amenorrea primaria viene definita come l'assenza del menarca dai 15 anni di età in presenza di caratteri sessuali secondari o, in assenza di questi ultimi, l'assenza del menarca dai 13 anni di età. Per amenorrea secondaria si intende, invece, l'assenza di flusso mestruale per un periodo di almeno sei mesi in una donna che ha avuto precedenti cicli mestruali regolari o di almeno dodici mesi in una donna con cicli oligomenorroidici.

Di rilievo è la considerazione che in presenza di amenorrea secondaria vi è stata una pregressa "testimonianza" dell'attività anatomo-funzionale dell'asse riproduttivo e dell'apparato genitale interno ed esterno, che al contrario è tutta da provare in caso di amenorrea primaria.

Amenorrea primaria

Le cause di amenorrea primaria sono molteplici ed ai fini di un corretto inquadramento diagnostico è utile classificarle sulla base dell'assenza o della presenza dei segni di maturazione sessuale (Tabelle I-II):

Tabella I. Classificazione dell'amenorrea primaria.

I. Assenza di maturazione sessuale	A. Insufficienza ovarica (Ipogonadismo ipergonadotropo)	- disgenesie gonadiche - deficit della steroidogenesi - s. dell'ovaio resistente
	B. Insufficienza ipotalamo-ipofisaria (Ipogonadismo ipogonadotropo)	1) Cause ipotalamiche: - organiche (tumori, radioterapia, traumi) - funzionali (calo ponderale, anoressia, esercizio fisico) - deficit congenito isolato delle gonadotropine (s. di Kallman) 2) Cause ipofisarie: - tumori, ipopituitarismo, chirurgia, radioterapia - ipopituitarismo idiopatico
	C. Pubertà ritardata costituzionale	
II. Normale maturazione sessuale	Anomalie anatomiche dell'utero e della vagina	1) Anomalie di sviluppo dei dotti di Müller (s. di Rokitanski) 2) Imene imperforato, setti vaginali
III. Anomalie della differenziazione genitale	1) Ermafroditismo vero	
	2) Pseudoermafroditismo maschile (femminilizzazione testicolare)	
	3) Pseudoermafroditismo femminile	

Tabella II. Frequenza delle più comuni cause di amenorrea primaria.

CATEGORIA	FREQUENZA (%)
Sviluppo caratteri sessuali secondari	30
▪ Agenesia mulleriana	10
▪ Insensibilità agli androgeni	9
▪ Setto vaginale	2
▪ Imene imperforato	1
▪ Pubertà ritardata costituzionale	8
Assenza di sviluppo caratteri sessuali secondari	
Con FSH aumentato	40
▪ 46XX	15
▪ 46XY	5
▪ Cariotipo anormale	20
Assenza di sviluppo caratteri sessuali secondari	
Con FSH diminuito	30
▪ Pubertà ritardata costituzionale	10
▪ Prolattinoma	5
▪ S. Kallmann	2
▪ Altre patologie SNC	3
▪ Stress, basso peso, anoressia	3
▪ PCO	3
▪ Iperplasia surrenale congenita	3
▪ Altro	1

La diagnosi etiologica è spesso difficile e richiede, oltre ad un'accurata anamnesi ed esame obiettivo, indagini di laboratorio e strumentali.

1. Anamnesi.

La raccolta anamnestica deve comprendere la valutazione di:

- -Parametri auxologici alla nascita e crescita
- -Presenza ed epoca di comparsa dei segni di sviluppo puberale
- -Presenza di malattie genetiche in altri membri della famiglia
- -Attività fisica sportiva agonistica
- -Peso corporeo ed eventuali modificazioni nel tempo
- -Pregressi interventi chirurgici o radioterapia della regione ipotalamo-ipofisi

2. Esame obiettivo

Deve valutare:

- -Peso e altezza
- -Presenza di anomalie scheletriche o del fenotipo
- -Sviluppo dei caratteri sessuali secondari
- -Anomalie e/o ambiguità dei genitali esterni
- -Segni clinici di iperandrogenismo

3. Indagini di laboratorio e strumentali

La scelta delle indagini da eseguire sarà differente in base alle informazioni acquisite mediante l'anamnesi e l'esame obiettivo (Figura I-Tabella III).

In particolare in caso di "**Amenorrea primaria con assenza dei caratteri sessuali secondari**" l'iter diagnostico sarà il seguente:

Indagini di I livello:

- 1) **FSH, LH:** Saranno elevati nel caso dell'insufficienza ovarica; risulteranno al contrario ridotti nell'insufficienza ipotalamo-ipofisaria.
- 2) **17 β Estradiolo:** mostra valori ridotti.
- 3) **Cariotipo:** Va eseguito solo nelle pazienti con elevati valori di FSH ed LH. Mostra variazioni nella S. di Turner e nelle sue varianti (45X0, mosaicismo X0/XX, X0, XXX, delezioni del braccio corto o lungo del cromosoma X); risulta invece normale nella disgenesi gonadica pura, nella S. dell'ovaio resistente e nel deficit della steroidogenesi.
- 4) **Ecografia pelvica:** Mostra ovaie fibrose nella S. di Turner e varianti; ovaie normali nelle pazienti con insufficienza ipotalamo-ipofisi, nella S. dell'ovaio resistente e nei deficit della steroidogenesi. Il riscontro invece di ovaie multi follicolari indica l'inizio di stimolazione gonadotropinica nella pubertà ritardata.
- 5) **Test al GnRH:** Può teoricamente distinguere il ritardo costituzionale da un'insufficienza ipotalamo-ipofisaria. Indicato nelle pazienti con bassi valori plasmatici di gonadotropine, mostra una risposta prepuberale (picco di LH<2U/L) nell'insufficienza ipotalamo-ipofisaria e nel ritardo puberale costituzionale. Un rapporto tra picco di LH e picco di FSH>1 indica invece l'inizio dell'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi.
- 6) **RM encefalo:** Eseguita solo nelle pz con bassi livelli plasmatici di gonadotropine, mostra lesioni espansive in caso di tumori diencefalo-ipofisari.

Indagini di II livello:

- 1) **GH, ACTH, Cortisolo, TSH, FT3, FT4:** Si riscontreranno livelli plasmatici ridotti di uno o più ormoni in caso di ipopituitarismo parziale o totale rispettivamente.
- 2) **Rx del capo per determinazione dell'età ossea:** Mostrerà un'età ossea ritardata nella pubertà ritardata costituzionale.

Nel caso di "**Amenorrea primaria con normale sviluppo dei caratteri sessuali secondari**" si procederà nel seguente modo:

- 1) **Esame ginecologico ed ecografia pelvica:** mostrano malformazioni vaginali, setti, stenosi, agenesia della vagina ed agenesia/ipoplasia dell'utero nelle S. di Rokitanski. Quest'ultima condizione deve essere tuttavia differenziata dalla sindrome da femminilizzazione testicolare in cui si riscontra una vagina a fondo cieco mentre l'utero è assente.

- 2) **Cariotipo:** mostra un corredo cromosomico 46XY nella S. da femminilizzazione testicolare e 46XX nelle anomalie di sviluppo dei dotti di Muller.

In presenza di **“Amenorrea primaria con anomalie della differenziazione genitale”** la diagnosi clinica sarà precoce e l’amenorrea primaria ne rappresenterà il segno. Un esempio è rappresentato dalla S. da femminilizzazione testicolare, la cui diagnosi si effettua con il cariotipo e con la determinazione del testosterone che mostrano, rispettivamente, un corredo cromosomico 46XY e livelli plasmatici di ormoni maschili compresi nei valori normali di riferimento.

Figura I. Iter diagnostico nell’ amenorrea primaria.

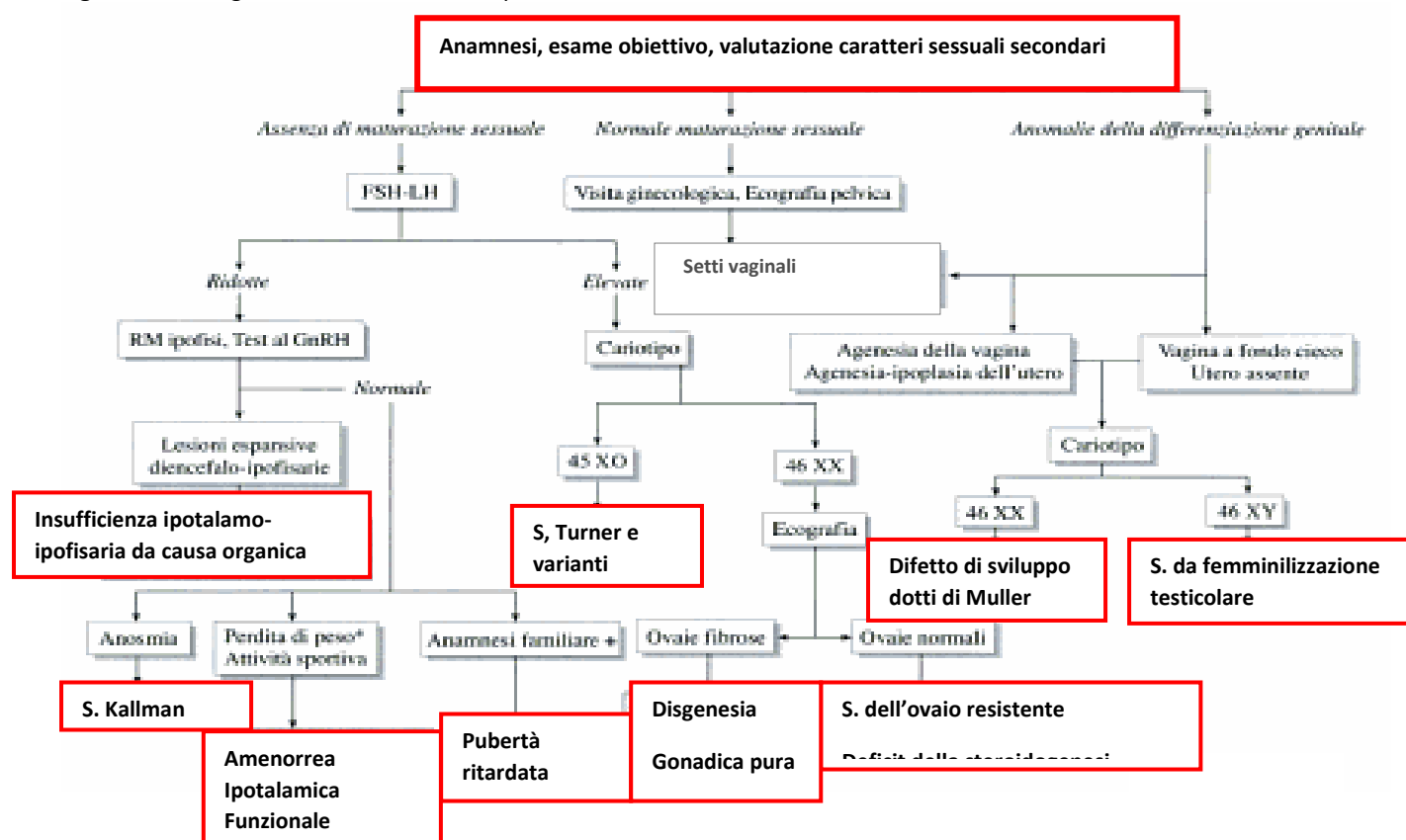


Tabella III. Diagnosi di amenorrea primaria (indagini strumentali e di laboratorio a confronto)

A - ASSENZA DEI CARATTERI SESSUALI SECONDARI			
Indagine	Accuratezza	Fattibilità	Costo
Di primo livello			
1. FSH, LH	ottima	ottima	basso
2. 17- β -estradiolo	buona	ottima	basso
3. Cariotipo	ottima	difficile	elevato
4. Ecografia pelvica	ottima	ottima	basso
5. Test al GnRH	buona	ottima	medio
6. RM ipofisi	ottima	difficile	elevato
Di secondo livello			
1. GH, ACTH, Cortisolo, TSH, FT ₄	ottima	ottima	medio
2. Soglia olfattiva	buona	difficile	medio
3. Rx carpo per età ossea	ottima	ottima	basso
B - NORMALE SVILUPPO DEI CARATTERI SESSUALI SECONDARI			
1. Visita ginecologica	ottima	ottima	basso
2. Ecografia pelvica	ottima	ottima	basso
3. Cariotipo	ottima	difficile	elevato

Amenorrea secondaria

Si riscontra nel 2-3% della popolazione femminile in età fertile.

Le cause di amenorrea secondaria sono molteplici e sono distinte in tre gruppi principali (tabelle IV-V):

Tabella IV. Cause di amenorrea secondaria.

ANOVULATORIETÀ CRONICA

Con ridotti livelli di estrogeni (Ipogonadismo Ipogonadotropo):

1) Ipotalamica

- Cause organiche: tumori (craniofaringiomi, gliomi del nervo ottico e dell'ipotalamo, amartomi), malattie infettive ed infiltrative (encefaliti, meningiti, tubercolosi, sarcoidosi)
- Cause funzionali: Stress psicofisico, perdita di peso, anoressia nervosa, bulimia.
- Idiopatica

2) Ipofisaria

- Tumori: prolattinomi, altri tumori secernenti (ACTH, TSH, GH), tumori non secernenti, sindrome della sella vuota
- Necrosi: panipopituitarismo, sindrome di Sheehan
- Malattie infiltrative
- Danno iatrogeno: chirurgia, radioterapia

Con secrezione di estrogeno conservata:

- Malattie dell'ovaio : s. dell'ovaio policistico, tumori a cellule della granulosa
- Malattie del surrene: s. di Cushing, malattia di Addison, deficit della steroidogenesi ad insorgenza tardiva, tumori secernenti androgeni
- Malattie della tiroide: ipotiroidismo, ipertiroidismo
-

INSUFFICIENZA OVARICA (IPOGONADISMO IPERGONADOTROPO)

- **Patologia genetica:** varianti della disgenesia gonadica
- **Menopausa precoce:** idiopatica, autoimmune, iatrogena, associata a pattern di polimorfismi genetici eterogenei

PATOLOGIA DELL'UTERO

- Sinechie uterine (S: di Asherman)
- Endometriti croniche

Tabella V. Frequenza delle più comuni cause di amenorrea secondaria.

CATEGORIA	FREQUENZA (%)
FSH basso o normale	66
▪ Basso peso/Anoressia ▪ Ipotiroidismo ▪ S. di Cushing ▪ Amenorrea ipotalamica cronica non specifica (include PCOS)	

▪ Tumori ipofisari, S. della sella vuota	
▪ S. di Sheehan	
FSH aumentato (insufficienza gonadica)	12
▪ 46XX	
▪ Cariotipo anormale	
Iperprolattinemia	13
Cause anatomiche (S. di Asherman)	7
Iperandrogenismo	2

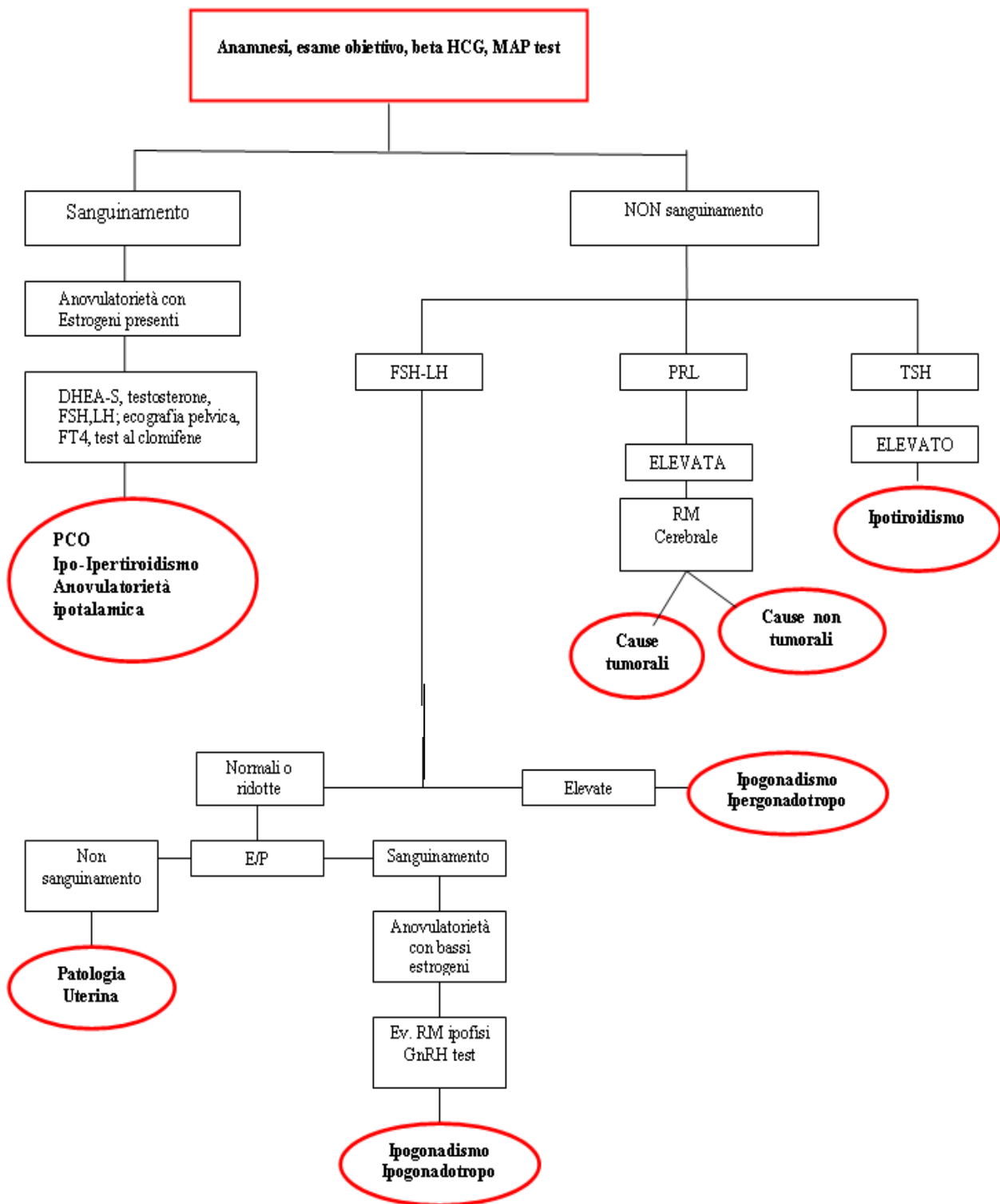
In particolare:

- A) **Le amenorree secondarie da insufficienza ovarica** (ipogonadismo ipergonadotropo) sono causate dalla compromissione della funzione ovarica come nel caso della menopausa precoce, in presenza di patologie autoimmuni o in caso di danno iatrogenico (chemioterapia, radioterapia, chirurgia)
- B) **Le amenorree secondarie da anovulatorietà cronica** sono causate da patologie che compromettendo la funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio, causano alterazione del ciclo con assenza di ovulazione. In relazione alla produzione estrogenica l'anovulatorietà cronica viene distinta in:
- *Anovulatorietà con ridotta secrezione di estrogeni (Ipogonadismo ipogonadotropo):* causata da patologie organiche o funzionali dell'ipotalamo che causano un'alterata secrezione pulsatile del GnRH cui consegue ridotta secrezione di FSH ed LH e quindi di estrogeni.
 - *Anovulatorietà con secrezione di estrogeni conservata:* causata da patologie che determinano alterazioni del feed-back ipotalamo-ipofisi-ovaio per produzione ciclica di estrogeni e/o iperproduzione di androgeni (S. dell'ovaio policistico, iperandrogenismi surrenali) o da patologie endocrine extragonadiche (ipo-ipertiroidismo, ipo-ipercortisolismo), in assenza di alterazioni nella secrezione delle gonadotropine.
- C) **Le amenorree secondarie a patologie dell'utero:** sono causate da lesioni anatomiche dell'endometrio che ne compromettono la sensibilità alla stimolazione ormonale (Sindrome di Asherman, endometriti croniche)

Diagnosi

Il flusso mestruale richiede un asse ipotalamo-ipofisi-gonadi intatto, un utero responsivo agli stimoli ormonali ed un tratto di deflusso integro e pervio. Una corretta valutazione diagnostica dovrebbe permetterci di localizzare la sede dell'anomalia (Figura 2- Tabella 4).

Figura II. Iter diagnostico dell'amenorrea secondaria.



1) Anamnesi ed esame obiettivo

L'approccio ad una donna amenorrea si basa in prima istanza sulla raccolta di una storia dettagliata e di un esame fisico completo.

Una corretta anamnesi, esclusa l'eventualità di una gravidanza, non dovrebbe prescindere dal ricercare la presenza di disfunzioni psicologiche e di stress emotivi che possono causare o associarsi all'amenorrea.

Dovranno sempre essere indagate terapie farmacologiche pregresse o in corso, precedenti radio o chemioterapie, variazioni ponderali, esercizio fisico associato a dieta ipocalorica e presenza di sintomi da ridotta produzione estrogenica, quali vampate e sudorazioni notturne. La storia mestruale dovrebbe

includere l'età del menarca, la data dell'ultima mestruazione e le caratteristiche dei precedenti cicli mestruali.

2) Indagini di I livello:

- **Test al progestinico.** Di fronte ad un MAP test negativo, potremmo trovarci davanti all'impervietà del tratto di deflusso, ad un endometrio non responsivo o ad un'inadeguata estrogenizzazione endometriale. Per tale motivo si rende necessario un test da stimolo con estro-progestinico per 21 gg consecutivi. La comparsa di emorragia da sospensione farà supporre che il tratto di deflusso e l'endometrio, stimolati in modo appropriato, siano funzionalmente normali.
- **17βEstradiolo:** I valori sono < 40 pg/ml nelle pazienti che non mostrano sanguinamento dopo MAP test.
- **TSH:** Nelle donne con ipotiroidismo primario, riscontreremo altri livelli di TSH e bassi livelli di FT4. L'aumentata secrezione di "tireotropin releasing hormone" (TRH), provoca generalmente un incremento oltre che del TSH anche della prolattina.
- **Prolattina:** mostra valori elevati nel 20% dei casi di amenorrea. Livelli plasmatici di 100 ng/dl sono indicativi della presenza di un adenoma ipofisario.
- **FSH, LH:** valori superiori a 40 mU/ml in pazienti che non mostrano sanguinamento dopo MAP test sono indicativi di ipogonadismo ipergonadotropo. Il riscontro di valori normali di FSH ed LH (compresi tra 5 e 20 mU/ml) in pazienti che non mostrano sanguinamento dopo MAP test indica anche un deficit ipotalamo-ipofisario. I valori delle gonadotropine risultano normali anche nelle pazienti con amenorrea secondaria da patologie uterine. Mentre nella sindrome dell'ovaio policistico si può riscontrare un aumento del rapporto LH/FSH.
- **Test agli estroprogestinici:** mostra assenza di sanguinamento in caso di amenorrea da patologie dell'utero; al contrario, la comparsa di sanguinamento in pazienti con gonadotropine normali, indica una normale risposta dell'utero alla stimolazione ormonale, confermando l'assenza della secrezione endogena di estrogeni e quindi la diagnosi di amenorrea da anovulatorietà cronica con bassi livelli di estrogeni (ipogonadismo ipergonadotropo). In questi casi è necessario identificare la causa, funzionale o organica, e la sede ipotalamica o ipofisaria della condizione che determina anovulatorietà.
- **Test al GnRH:** mostra una risposta assente o ridotta in caso di insufficienza ipofisaria. In caso di risposta ridotta è necessario ripetere il test dopo somministrazione di GnRH per alcuni giorni (effetto priming) perché le cellule non stimulate per lungo tempo dal GnRH endogeno possono non rispondere alla stimolazione acuta. Una risposta normale indica un deficit ipotalamico, anche funzionale (anoressia nervosa, stress psicofisico).
- **Ecografia pelvica:** può mostrare la presenza di ovaie micropolicistiche nella Sindrome dell'ovaio policistico ed evidenzia uno spessore endometriale ridotto nelle amenorree con ipoestrogenismo. Nelle amenorree da anovulatorietà cronica con secrezione di estrogeni conservata, l'endometrio può invece apparire iperplastico.
- **RM ipofisi:** Identifica eventuali lesioni espansive della regione ipotalamo-ipofisaria.

3) Tra le indagini di II livello rientrano:

- **Test al clomifene citrato:** eseguibile nelle pazienti che mostrano sanguinamento dopo il test con MAP per evidenziare il grado di compromissione dell'asse ipotalamo-ipofisi. Una risposta normale (aumento dei valori di FSH ed LH > 50% e ripristino dell'ovulazione) indica l'assenza di patologie ipotalamiche gravi. Il test è utile anche quando si vuole somministrare il clomifene per induzione dell'ovulazione.
- **Testosterone totale, DHEA-S:** mostrano valori elevati nelle pazienti con amenorrea e segni di iperandrogenismo.
- **Cariotipo:** può mostrare alterazioni cromosomiche in caso di menopausa precoce
- **Anticorpi antiovaio ed antiovociti:** si possono riscontrare in pazienti con menopausa precoce autoimmune. Poiché tale condizione è associata nel 40% dei casi a deficit polighiandolari, è opportuno dosare anche anticorpi antitiroide ed antisurrene.

- **Isteroscopia e biopsia endometriale:** mostra sinechie della cavità uterina e/o del canale cervicale con conseguente oblitterazione parziale o totale nelle amenorree da patologie dell'utero (S. di Asherman). La biopsia dell'endometrio mostra la perdita dello strato basale.

Tabella 4. Cause di amenorrea secondaria (indagini strumentali e di laboratorio a confronto)

Indagine	Accuratezza	Fattibilità	Costo
Di primo livello			
1. β -hCG	ottima	ottima	basso
2. MAP test	ottima	ottima	basso
3. 17β -estradiolo	scarsa	ottima	basso
4. Prolattina	ottima	ottima	basso
5. FSH, LH	ottima	ottima	basso
6. Test con estroprogestinici	ottima	ottima	basso
7. Test al GnRH	buona	ottima	medio
8. Ecografia pelvica	ottima	ottima	basso
9. RM ipofisi	ottima	buona	elevato
Di secondo livello			
1. Test al clomifene	buona	ottima	medio
2. Testosterone, DHEA-S	buona	ottima	basso
3. TSH, FT_4	buona	ottima	basso
4. Cariotipo	buona	difficile	elevato
5. Anticorpi antiovaio	buona	difficile	elevato
6. Isteroscopia	ottima	ottima	medio

La **prognosi** delle amenorree è sfavorevole nell'insufficienza ovarica per la ripresa del ciclo mestruale e della fertilità. Nelle amenorree da patologie organiche ipotalamo-ipofisi (tumori, lesioni vascolari, esiti di chirurgia e/o radioterapia) la prognosi dipende dal grado di compromissione della funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi e dall'associazione di deficit di altri ormoni antero-ipofisari.

La prognosi è invece favorevole nell'amenorrea da iperprolattinemia, che si risolve con un trattamento medico o chirurgico così come nelle amenorree da cause ipotalamiche funzionali, dove la correzione delle cause e la terapia con GnRH possono ripristinare la ciclicità mestruale e la fertilità.

Bibliografia

- Klein DA, Poth MA. Amenorrhea: An Approach to Diagnosis and Management. Am Fam Physician. 2013 Jun 1;87(11):781-8.
- Current Evaluation of amenorrhea. The practice Committee of the American Society for reproductive Medicine. Fertil. Steril 2008
- William L. Ledger, Jonathan Skull. Amenorrhea: investigation and treatment. Obstetrics and gynaecology 2004 ; 14,256-260
- Master-Hunter T, Heiman DL. Amenorrhea: evaluation and treatment. Am Fam Physician. 2006 ;73(8):1374-82.
- Monaco F. Linee guida per la diagnosi, il trattamento ed il controllo delle malattie endocrine e metaboliche. Volume III. Edizioni SEE 2000
- Cunningham FG et al: Williams Obstetrics, 19th ed. Norwalke, Appleton& Lange; 1993
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Amenorrhea (ACOG Technical Bulletin 128). Washington, D.C.: ACOG, 1989.
- Kiningham RB, Apgar BS, Schwenk TL. Evaluation of amenorrhea. Am Fam Physician 1996;53:1185-94.
- Speroff L, Fritz MA. Amenorrhea. In Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 7th ed. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins. 2005; 401-64.

OBESITÀ E SINDROME DELL'OVAIO POLICISTICO

La sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) rappresenta il più comune disturbo endocrino ed è la principale causa di sterilità anovulatoria nella donna. Si riscontra nel 5-10% della popolazione femminile in età riproduttiva.

Parlando della PCOS ci si riferisce ad un disordine riproduttivo-metabolico multisistemico, caratterizzato fisiopatologicamente dalla variabile giustapposizione di disfunzioni ipotalamico-pituitario-ovariche e anomalie metaboliche, in particolare glico-insulinemiche.

La sindrome si manifesta a partire dall'adolescenza con una sintomatologia eterogenea caratterizzata da irregolarità mestruali, irsutismo, acne e seborrea, acanthosis nigricans; nell'età adulta è spesso responsabile di una ridotta fertilità dovuta all'anovulazione cronica.

Irregolarità mestruali: le alterazioni del ciclo mestruale sono rilevabili in oltre la metà delle pazienti. Generalmente si tratta di forme di oligomenorrea, con mestruazioni che compaiono ogni tra 40 e 180 giorni; talvolta gli intervalli intermestruali sono ancora più lunghi potendo arrivare ad una situazione di vera e propria amenorrea (30% circa della pazienti). Una caratteristica dei cicli mestruali di queste pazienti è l'anovulazione cronica. E' da sottolineare che nelle pazienti che presentano alterazioni metaboliche si riscontra un quadro di irregolarità mestruali più marcato.

Iperandrogenismo: il marker più specifico sembra essere l'aumento del FAI (presente nel 50-70% dei casi) mentre meno sensibili sembrano essere le valutazioni degli ormoni di origine ovarica (testosterone e androstenedione).

Dal punto di vista clinico possono coadiuvare la diagnosi alcune altre caratteristiche androgeno-dipendenti quali l'alopecia, l'acne e la seborrea (presenti in circa il 20-25% delle pazienti iperandrogeniche) e l'**irsutismo**, che interessa fino al 60% delle pazienti con iperandrogenismo. L'entità dell'irsutismo è molto variabile e può essere quantificato mediante l'utilizzo di specifiche scale di valutazione, la più utilizzata delle quali è lo score di Ferriman-Gallwey. Si tratta di una valutazione assolutamente soggettiva che si presta a non poche critiche pur se finora una valida alternativa non è stata formulata. Infine è possibile osservare l'Acanthosis Nigricans, un'alterazione dermatologica caratterizzata da un ispessimento della cute e da una iperpigmentazione tipicamente del collo e delle pieghe cutanee, causata dall'eccessiva esposizione del derma ad una situazione di iperinsulinemia, della quale l'Acanthosis può essere considerata un marcatore cutaneo.

Parametri ecografici: L'immagine tipica all'ecografia trans vaginale è quella di ovaie aumentate di volume, contenenti un aumentato numero (> 12) di piccoli follicoli di diametro tra i 2 e gli 8 mm disposti principalmente sotto la corticale ovarica come a formare una corona di rosario, con la presenza di uno stroma ovarico maggiormente rappresentato e di aspetto iperecogeno.

Il quadro ecografico tipico delle PCOS entra in diagnosi differenziale con la condizione di ovaio multifollicolare, tipica di uno stato di immaturità funzionale dell'ovaio presente subito dopo il menarca, spesso nelle amenorree da perdita di peso e nelle amenorree psicogene. L'ovaio multifollicolare appare anch'esso di aspetto multicistico, ma generalmente i follicoli sono più grandi, in numero minore, non hanno la tipica disposizione corticale presente nella PCOS e non c'è la presenza dell'area stromale iperecogena. La distinzione però non è sempre così netta e non di rado vengono classificati come PCO-like quadri di ovaio multifollicolare.

L'eterogeneità della sindrome ha fatto sì che i criteri utilizzati per la diagnosi e la definizione di PCOS, sia nell'attività clinica sia in quella di ricerca, non siano stati ancora standardizzati. La difficoltà è legata alle caratteristiche intrinseche della sindrome (1, 2): eterogeneità dei sintomi, variabilità degli stessi nelle diverse fasce di età, sovrapposizione dei criteri diagnostici strumentali e di laboratorio con situazioni fisiologiche e, quindi, mancanza di cut-off condivisi, utili nella pratica clinica. La confusione riguardo ai suddetti criteri, presente soprattutto fra studiosi americani ed europei, determina una importante eterogeneità delle popolazioni studiate.

Dal 1990 la conferenza del National Institutes of Health/ National Institute of Child Health and Human Development (NIH/NICHHD), negli Stati Uniti, ha proposto come criteri per la diagnosi di

PCOS anovulazione e iperandrogenismo, confermato da segni clinici o da evidenze di laboratorio, in assenza di altre cause di iperandrogenismo. Secondo questo punto di vista la presenza di una morfologia policistica delle ovaie non sarebbe essenziale per la diagnosi (3-4).

L'aspetto ecografico viene invece incluso tra i criteri della Consensus di Rotterdam del 2003 (ESHRE / ASRM) (5), secondo cui per la diagnosi di PCOS è necessaria la presenza di due dei tre seguenti criteri: oligo e / o anovulazione, segni clinici e/o biochimici di iperandrogenismo e segni ecografici (la presenza dei 12 o più follicoli in ogni ovaio di misura 2-9 mm di diametro e / o aumento di volume ovarico > 10 cm³), dopo l'esclusione di altre patologie con analoga presentazione clinica (iperplasia surrenalica congenita, sindrome di Cushing, tumori androgeno-secermenti). Tali criteri diagnostici sono stati poi raccomandati nel 2012 anche dall'NIH (6). L'utilizzo della classificazione ESHRE- ASRM ha determinato un aumento dell'incidenza della sindrome rispetto ai criteri NIH, che abbracciano solo le pazienti con il quadro clinico più severo.

Infine nel 2006 l'Androgen Excess Society (AES) ha proposto un'ulteriore classificazione i cui criteri necessari per diagnosticare la PCOS sono l'iperandrogenismo più uno dei due seguenti criteri: oligomenorrea/anovulazione o aspetto di ovaie micropolicistiche (PCO). Quindi questa classificazione esclude tutte le pazienti con PCO e con irregolarità mestruali senza iperandrogenismo (7).

Tutte queste classificazioni hanno così portato all'individuazione di diversi fenotipi di PCOS che presentano caratteristiche peculiari (8) (tabella 1).

Tabella 1: Espressione dei diversi fenotipi utilizzando differenti criteri diagnostici

Features	Phenotypes						
	A	B	C	D	E	F	G
Hyperandrogenism (biochemical or clinical)	+	+	+	-	+	-	-
Oligo- or anovulation	+	+	-	+	-	-	+
Polycystic ovaries	+	-	+	+	-	+	-
NIH criteria	√	√					
ESHRE/ASRM criteria	√	√	√	√			
AES criteria	√	√	√				

Moran; Teede. Hum Reprod Update. 2009

A= pz che soddisfano i criteri NIH con PCO

B= pz che soddisfano i criteri NIH senza PCO

C= pz con iperandrogenismo e con PCO

D= pz con oligomenorrea o anovulazione e con PCO

E= pz con solo iperandrogenismo

F= pz con solo PCO

G= pz con solo oligomenorrea o anovulazione

Infatti da un punto di vista diagnostico, in accordo con la classificazione di Rotterdam, possono essere identificati cluster molto diversi di pazienti PCOS che si differenziano in relazione alla incidenza dei parametri diagnostici per una ampia e ragguardevole differenza del FAI e/o della concentrazione di specifici androgeni; questi cluster, così fenotipicamente variegati, esprimono incidenze anch'esse significativamente diverse dell'impairment metabolico e in definitiva dell'incidenza di sindrome metabolica (SM) stessa (tabella 2).

Tabella 2. Da Belosi et al. Human Reprod 2006.

	PCOS- Rotterdam/NIH (n°=273 HA+Anov)	PCOS- Rotterdam (n°= 72 HA or Anov)	P-value
Age (years)	26.38 ± 5.76	27.53 ± 6.65	NS
Weight (kg)	70.83 ± 17.75	64.90 ± 14.00	<0.05
BMI (kg/m²)	26.86 ± 6.11	24.90 ± 4.75	<0.05
WHR	0.81 ± 0.07	0.75 ± 0.06	<0.05
FSH (mUI/ml)	5.36 ± 1.70	6.07 ± 2.33	<0.05
LH (mUI/ml)	8.71 ± 5.12	8.23 ± 5.74	NS
Testosterone (ng/ml)	0.70 ± 0.28	0.52 ± 0.21	<0.05
Androstenedione	2.85 ± 1.08	2.30 ± 1.03	NS
17-OHP (ng/ml)	1.40 ± 0.68	1.25 ± 0.67	NS
DHEAS (ng/ml)	2099.47 ± 813.64	1881.88 ± 780.66	<0.05
SHBG (nmol/l)	33.03 ± 17.72	45.07 ± 17.80	<0.05
FAI	9.60 ± 7.04	4.76 ± 3.02	<0.05
Fast insulin (μUI/ml)	13.79 ± 20.16	8.49 ± 4.72	<0.05
AUC insulin (μUI/ml x 240)	15809.78 ± 11731.00	10361.30 ± 6060.66	<0.05
M (mg/kg/min)^a	3.80 ± 2.23	5.80 ± 3.03	<0.05

Obesità, iperinsulinismo e sindrome metabolica. Numerosi studi di popolazione sulle caratteristiche cliniche ed antropometriche della PCOS hanno evidenziato come l'obesità sia presente in una percentuale che va dal 40% al 70% di queste donne, con variazioni legate alla popolazione studiata e alla provenienza etnica. La caratteristica peculiare dell'obesità nelle pazienti PCOS è rappresentata dalla distribuzione prevalentemente centrale del grasso corporeo. Tale fenotipo configura il quadro di obesità di tipo androide, con adipi maggiormente concentrato a livello tronco – addominale tale da determinare un aumento della circonferenza della vita e, in particolare, del rapporto vita/fianchi (waist to hip ratio: WHR) rispetto alle donne normoovulatorie. E' stato inoltre ben documentato che una buona parte delle donne con PCOS, indipendentemente dal peso, presenti una forma di insulino – resistenza (IR), fisiopatologicamente non ancora del tutto definita. Le pazienti con PCOS tendono inoltre a presentare una condizione di iperinsulinemia, che non può essere esclusivamente ricondotta allo stato di insulino-resistenza, e che non appare necessariamente correlata al peso corporeo (figura 1): sono stati infatti riportati in queste donne alterazioni primarie della secrezione di insulina, indipendenti dalla presenza di insulino-resistenza periferica, così come difetti della clearance di tale ormone a livello epatico (9).

Le donne con PCOS presentano frequentemente le caratteristiche della sindrome metabolica (SM) (figura 2) ed hanno un elevato rischio di sviluppare malattie cardiovascolari (10,11) e diabete mellito tipo 2 (12,13). I componenti fondamentali che definiscono la SM includono: obesità

centrale, ipertensione, dislipidemia, alterata tolleranza glucidica o IR. Altre condizioni associate alla sindrome metabolica, includono: alterata regolazione vascolare (presenza di microalbuminuria e disfunzione endoteliale), stato proinfiammatorio (elevata proteina C-reattiva, citochine proinfiammatorie come Tumor necrosis factor- α e interleuchina-6) e stato protrombotico (elevati fattori fibrinolitici) (14). Per ciascun gruppo di età, nelle pazienti con PCOS la probabilità di comparsa della sindrome è superiore di 2 – 4 volte rispetto alle donne che non presentano tale condizione.

Analizzando la letteratura emerge che solo il 9% delle donne PCOS non mostra alcuna anomalia metabolica, mentre si osservano: bassi valori del colesterolo HDL (68%), body mass index (BMI) e circonferenza vita elevati (67%), ipertensione (45%), ipertrigliceridemia (35%), elevata glicemia a digiuno (4%) (15).

Figura1: Prevalenza dell' iperinsulinemia nelle pazienti PCOS

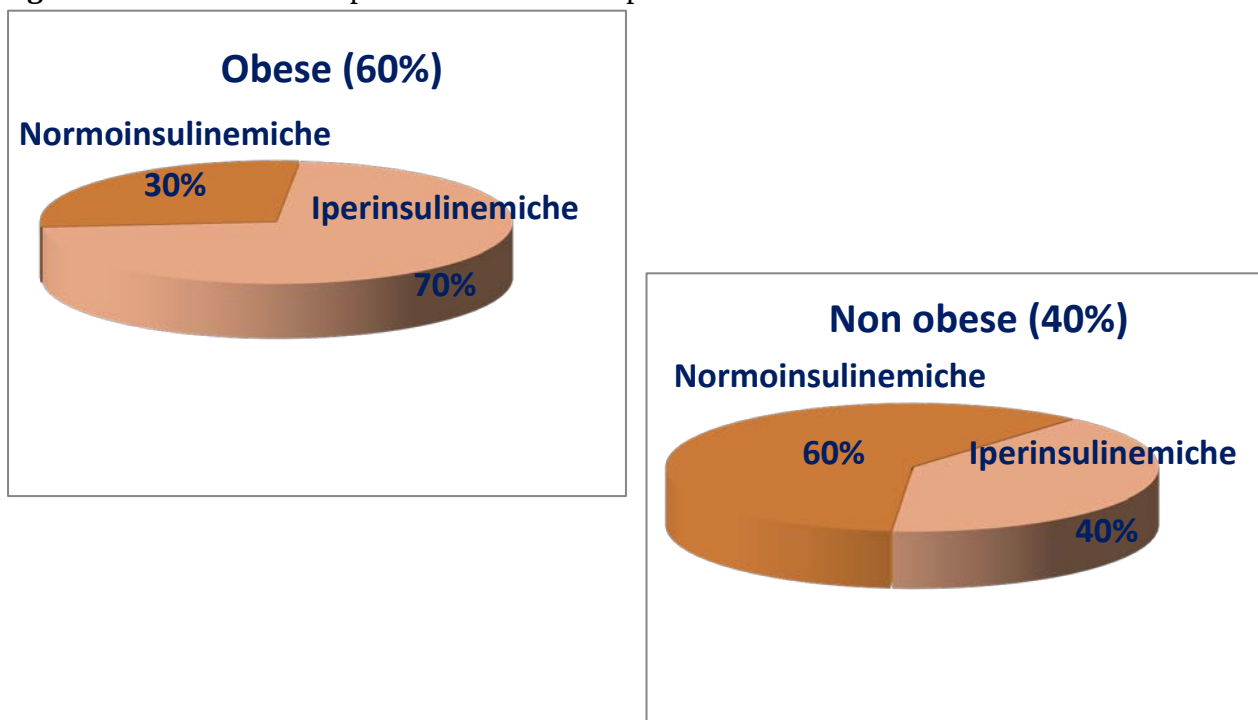
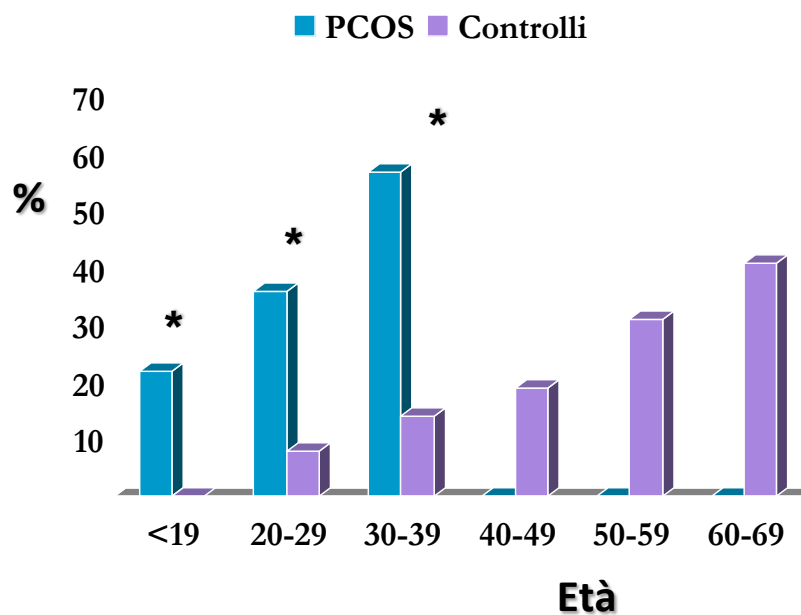


Figura 2. Prevalenza della sindrome metabolica in pazienti con PCOS e controlli in relazione all'età.



* : $p < 0.001$

(modificato da Apridonidze et al, JCEM 2005)

Le donne PCOS con SM mostrano inoltre livelli androgenici maggiori delle donne PCOS senza SM (16) ed in particolare le pazienti con anovulazione cronica hanno un rischio maggiore di sviluppare IR rispetto alle donne PCOS con i cicli mestruali regolari (16,17).

È dibattuto se tutte le donne con diagnosi di PCOS, indipendentemente dal fenotipo, dal BMI e dalla familiarità, necessitino di uno screening metabolico.

La AES raccomanda lo screening metabolico a tutte le pazienti con diagnosi di PCOS con prova da carico orale di glucosio (OGTT) a 2 ore. Raccomanda inoltre di ripetere lo screening almeno una volta ogni 2 anni, in caso di un primo OGTT negativo, e una volta all'anno per le pazienti con diagnosi di intolleranza glucidica (20) (tabella 3).

Tabella 3. Raccomandazione dell'AES per lo screening metabolico nelle pazienti con PCOS

- All patients with PCOS, regardless of BMI, should be screened for IGT using a 2-h OGTT.^a
- Patients with NGT should be rescreened at least once every 2 yr or earlier if additional risk factors are identified.
- Patients with IGT should be screened annually for the development of DM.
- The mainstay of treatment for all patients with PCOS and IGT should be intensive lifestyle modification as well as weight loss in obese patients.
- Insulin-sensitizing agents, such as metformin and thiazolidinediones, should be considered in patients with PCOS and IGT.
- Adolescents with PCOS should be screened for IGT using a 2-h OGTT repeated once every 2 yr. If IGT develops, they should be treated with intensive lifestyle modification, and treatment with metformin should be considered.

^a See *Minority Report*.

La consensus di Rotterdam del 2003 riserva invece lo screening per la SM solo alle pazienti obese e a quelle non-obese ma con fattori di rischio, quali la familiarità per diabete mellito di tipo 2 (18,19). (tabella 4).

Tabella 4. Raccomandazione dell'ESHRE - ASRM per lo screening metabolico nelle pazienti con PCOS

Summary of 2003 polycystic ovary syndrome (PCOS) consensus regarding screening for metabolic disorders.

Summary of consensus

1. No tests of insulin resistance are necessary to make the diagnosis of PCOS, nor are they needed to select treatments.
2. Obese women with PCOS should be screened for the metabolic syndrome, including glucose intolerance with an oral glucose tolerance test.
3. Further studies are necessary in nonobese women with PCOS to determine the utility of these tests, although they may be considered if additional risk factors for insulin resistance, such as a family history of diabetes, are present.

2003 Rotterdam PCOS consensus. *Fertil Steril* 2004.

In conclusione, nonostante la valutazione del quadro metabolico non sia indispensabile ai fini puramente diagnostici, sarebbe comunque utile proporre uno screening a tutte le pazienti, dal momento che l'iperinsulinismo può essere presente anche in soggetti magri con PCOS (20,16). Infatti, la normalizzazione dei livelli di insulina, oltre che la perdita di grasso viscerale, è frequentemente associata, in queste pazienti, ad una riduzione degli androgeni circolanti e ad un aumento dell'SHBG. Inoltre il trattamento dell'iperinsulinismo e dell'obesità si traduce anche in un aumento della percentuale di gravidanze spontanee ed in una riduzione dei tassi di aborto precoce (21).

Obesità

L'obesità rappresenta di per sé una problematica con ripercussioni sulla sfera riproduttiva, indipendentemente dalla presenza della sindrome. Il sovrappeso (definito come un BMI > 25) e l'obesità (definita da un BMI > 30) sono, infatti, correlati sia ad una riduzione della fertilità spontanea, sia ad un minore successo dei trattamenti di riproduzione medicalmente assistita.

Nella definizione di obesità è importante distinguere tra obesità centrale (detta anche viscerale o androide) e l'obesità periferica (detta anche sottocutanea o ginoide). L'obesità centrale è caratterizzata dal deposito di adipe a livello addominale e riconoscibile per un rapporto vita-fianchi (dato dal rapporto fra la circonferenza della vita, che corrisponde alla misura minore fra gabbia toracica e cresta iliaca, con quella dei fianchi, che a sua volta corrisponde alla misura maggiore tra vita e cosce) > 0.85 nella donna. L'obesità periferica, invece, si differenzia dalla precedente per un rapporto < 0.85. Dal punto di vista fisiopatologico, il tessuto adiposo dell'obesità androide è caratterizzato da un aumento dell'aromatizzazione periferica degli androgeni in estrogeni e da una condizione di insulino-resistenza periferica con conseguente iperproduzione di insulina. Gli elevati livelli di insulina in circolo sembrano giocare un ruolo importante in diversi aspetti clinici della sindrome, compresi l'eccesso di androgeni e l'anovularietà. L'insulina, infatti, sembrerebbe esercitare un effetto diretto sull'ovaio: tale ormone è in grado di stimolare la produzione di androgeni agendo, sinergicamente all' LH, sul sistema enzimatico del citocromo P450c17 (22).

L'irsutismo, l'oligoamenorrea e l'infertilità, separatamente o in associazione, risultano significativamente più alti nei soggetti obesi rispetto a donne normopeso. Numerosi studi epidemiologici suggeriscono che i cambiamenti del peso e della composizione corporea sono fattori critici nella regolazione dello sviluppo puberale nelle donne giovani. Studi di coorte hanno dimostrato che per ogni aumento di 5 Kg dall'età di 18 anni si verifica un aumento del 5% del tempo medio di ricerca di prole (23). In aggiunta, ci sono dati consistenti che indicano che l'obesità è anche associata ad un aumentato rischio di aborto spontaneo (24). L'obesità può anche compromettere l'esito di tecniche di fecondazione assistita in termini tasso di gravidanza e di impianto, di rischio di aborto spontaneo e di complicanze gestazionali (25). Alcuni dati suggeriscono infine che la riduzione della riserva ovarica e l'aumento della produzione di FSH si manifestano alcuni anni prima in donne obese piuttosto che in donne di peso normale (26).

Un discorso a parte merita l'obesità addominale, per i risvolti endocrino-metabolici che ne derivano. Il ruolo del tessuto adiposo è fondamentale nel controllare l'equilibrio della disponibilità degli ormoni sessuali in tessuti bersaglio. La maggior parte degli ormoni sessuali sembrano essere concentrati preferenzialmente all'interno del tessuto adiposo piuttosto che nel sangue. Di conseguenza, in virtù della maggiore presenza di grasso nell'organismo obeso, il pool di steroidi in tali soggetti è maggiore di quello che si trova in individui di peso normale (27).

L'obesità centrale rappresenta uno dei componenti fondamentali che definiscono la SM. Nella definizione di SM in età fertile è intuitivamente desumibile che l'insulino-resistenza, la distribuzione del grasso corporeo e i fattori bioumorali sono significativamente più presenti rispetto a ipertensione e diabete tipo II.

Nell'ambito della triade *obesità semplice- distribuzione grasso corporeo – IR* può esser utile distinguere gli effetti dei singoli fattori sulla *funzione ovarica*:

- Per quanto concerne l'*obesità*, è noto che l'aumento del peso corporeo e del tessuto adiposo si associa ad alterazioni dell'equilibrio di alcuni steroidi sessuali che possono coinvolgere sia gli androgeni e gli estrogeni, sia la loro proteina carrier (SHBG). In particolare l'*obesità* di I-II grado è associata a circa un 20% di alterazioni del ciclo mestruale, quella di IV-V a oltre il 50%; tuttavia, la curva di incremento delle alterazioni del ciclo, in funzione della crescita del BMI, cresce in maniera sicuramente meno significativa rispetto ai casi di obesità centrale. Non sono assolutamente chiariti, ove presenti, gli eventuali rapporti tra *obesità* semplice e ridotta *qualità ovocitaria*; l'argomento necessita di specifici end points di ricerca che allo stato non sono palesemente rilevabili dall'analisi della letteratura (28).

- E' stato dimostrato che la distribuzione del grasso corporeo può incidere significativamente sulle concentrazioni di SHBG. Infatti, donne con obesità centrale di solito hanno livelli sierici di SHBG più bassi rispetto a donne con obesità periferica (29). Questo sembra essere in gran parte dipendente dai maggiori livelli circolanti di insulina, in quanto quest'ormone esercita un'azione inibitoria sulla sintesi epatica di SHBG (30). Di conseguenza, a causa della riduzione delle concentrazioni di SHBG, la frazione libera di testosterone free androgen index (FAI) tende ad essere più elevata nelle donne con obesità centrale (31). L'obesità centrale, quindi, sembra essere associata a una condizione di iperandrogenismo funzionale.
- I rapporti tra *insulina* e *disturbi del ciclo* sono evidenziati dalla significativa positiva correlazione tra insulina e androgeni nelle diverse condizioni cliniche di IR ove coesiste l'iperandrogenismo in larga parte dei pazienti. Ciò è dovuto agli effetti diretti della stessa insulina sull'incremento della steroidogenesi ovarica e surrenalica e della sintesi ipofisaria di LH, nonché sulla diminuita sintesi di SHBG. L'insieme di queste alterazioni porta ad un disturbo della ciclicità della funzione ovarica attraverso un meccanismo di amplificazione, probabilmente sinergica, degli effetti dell'iperandrogenismo.

Terapia della PCOS e dell'infertilità.

Il trattamento della sindrome dell'ovaio policistico varia a seconda dei sintomi della paziente e dalle sue aspettative e priorità. Gli approcci terapeutici possono essere rivolti al controllo della ciclicità mestruale, alla correzione dell'infertilità, alla diminuzione del grado di irsutismo e/o acne e al miglioramento del quadro endocrino-metabolico correlato all'iperinsulinismo.

Nella maggior parte dei casi si tratta di terapie sintomatiche che non intervengono sulla causa della disfunzione.

Modifiche dello stile di vita

E' noto come la riduzione del peso corporeo e le modifiche dello stile di vita portino ad un miglioramento dell'iperandrogenismo biochimico, della tolleranza glucidica e, in molti casi, ad una ripresa della ciclicità mestruale. Meno acclarati risultano gli effetti delle modificazioni dello stile di vita su *pregnancy rate* riduzione di aborti spontanei: la maggior parte degli studi pubblicati depone per un effetto positivo del calo ponderale sulla fertilità in vivo e dopo l'applicazione di ART (32, 33). E' tuttavia da notare che non sono stati fino ad oggi realizzati estesi studi prospettici controllati, e che non è assolutamente stato stabilito un BMI soglia sopra il quale sia possibile identificare un chiaro aumento del rischio.

Un recente studio prospettico ha dimostrato che, nell'ambito della fecondazione assistita, un programma comportamentale e dietetico di 6 mesi, applicato in donne infertili affette da obesità, non è in grado di aumentare significativamente i risultati del trattamento di ART (34). La perdita di peso è comunque raccomandata come terapia di prima linea nelle donne obese con PCOS in cerca di gravidanza.

Farmaci insulino-sensibilizzanti:

Metformina Si tratta di una molecola appartenente alla famiglia delle biguanidi, in grado di aumentare l'uptake e l'utilizzo del glucosio da parte del muscolo (che rappresenta il bersaglio principale dell'azione ipoglicemizzante dell'insulina). La metformina inoltre inibisce la gluconeogenesi epatica con un risultato netto finale di una diminuzione dei livelli di insulina circolanti e del grado di insulino-resistenza. Numerosi studi hanno dimostrato che la somministrazione di metformina nelle donne con PCOS determina una riduzione dei livelli circolanti di androgeni e aumenta il tasso di ovulazione spontanea. L'efficacia nel trattamento dell'irsutismo rimane invece ancora da stabilire. Alcuni lavori hanno ipotizzato che la biguanide

possa avere un effetto diretto sulla steroidogenesi ovarica, indipendentemente dal ruolo dell'insulina (35). Questo farmaco presenta frequentemente come effetti collaterali dose-relati disturbi gastro-intestinali, che tendono a risolversi dopo le prime settimane di trattamento.

Inositoli Negli ultimi anni sono state numerose le pubblicazioni che hanno mostrato il miglioramento dei parametri clinici, endocrini e metabolici nella pazienti con PCOS dopo trattamento con D- chiro inositolo, Myo – inositolo o una combinazione di entrambi. Una recente Consensus ha raccomandato l'utilizzo di una combinazione di entrambe le molecole con un rapporto Myo – D-chiro di 40:1. Sono tuttavia ancora necessari ampi trial clinici randomizzati per poterne validare l'utilizzo nella pratica clinica (36).

Clomifene citrato:

L'anti-estrogeno Clomifene citrato (CC) rimane la prima scelta raccomandata dalle linee guida per l'induzione dell'ovulazione in queste pazienti (37).

Agisce a livello ipotalamico legandosi ai recettori per gli estrogeni, mantenendone a lungo la deplezione. L'ipofisi avverte un messaggio di scarso livello di estrogeni in aumentare la dose fino a 150 mg/die ed eventualmente prolungare la terapia fino a 7 giorni. Ha un'efficacia del 75% nel ripristino di cicli ovulatori, ma è sensibilmente più bassa la sua efficacia in termini di gravidanze ottenute (20% circa). Tale apparente discrepanza tra i tassi di ovulazione e quelli di gravidanza sembra dovuto agli effetti antiestrogenici del CC sull'endometrio e sul muco cervicale. Circa il 20-25% delle donne con PCOS, però, risultano resistenti al CC. La mancata risposta alla terapia è spesso associata ad una maggiore alterazione del metabolismo glico-insulinemico, quindi una terapia iniziale che permetta di migliorare l'assetto metabolico può migliorare il quadro ormonale associato alla PCOS e facilitare l'ovulazione.

Inibitori dell'aromatasi

Tra i farmaci induttori dell'ovulazione presentano un ruolo crescente gli *inibitori dell'aromatasi*, in particolare quelli di terza generazione come il *letrozolo*. La somministrazione di questa molecola (2.5 mg/die dal 3° al 7° giorno del ciclo) induce l'ovulazione liberando l'asse ipotalamo-ipofisi dal feedback negativo degli estrogeni, incrementando la secrezione di FSH, con conseguente stimolo sulla follicologenesi ovarica. Un recente ampio trial clinico randomizzato ha dimostrato come il letrozolo sia più efficace del CC sia in termini di induzione dell'ovulazione che di pregnancy rate in queste pazienti (38).

Gonadotropine esogene

Rappresentano il trattamento di seconda scelta nell'induzione dell'ovulazione nelle pazienti con PCOS. La percentuale di gravidanza descritta in letteratura varia dal 20 al 40% ma questo trattamento si associa ad un rischio più elevato di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS) e di gravidanze multiple. Frequentemente si osservano infatti sviluppo follicolare multiplo ed elevati livelli di estradiolo. La somministrazione di protocolli low-dose (75 IU/die fino al 14° giorno per poi aumentare la dose) si è dimostrata, nelle pazienti con PCOS, più efficace e sicura per ottenere un'ovulazione monofollicolare (39).

Chirurgia laparoscopica dell'ovaio.

Le metodiche chirurgiche comunemente impiegate (drilling ovarico) includono la diatermocoagulazione con corrente monopolare o bipolare e il laser. Il tipo di metodica utilizzata non sembra incidere sugli outcome (40). Purtroppo la letteratura è carente di trial clinici randomizzati in merito. Sembra esserci accordo, invece, sull'imporatanza intuitiva di limitare il più possibile il danno termico (un numero pari a 4 fori si è dimostrato essere efficace) al fine di non danneggiare la riserva ovarica. In merito all'efficacia, nel 50% circa di pazienti trattate si rendono necessarie terapie adiuvanti; in particolare, se dopo 12 settimane non compare un ciclo

ovulatorio, è indicata l'aggiunta del CC (41). La terapia con FSH, invece, dovrebbe essere considerata dopo sei mesi dal drilling. In base alla consensus ESHRE 2008 la principale indicazione al drilling è rappresentata dalla non responsività al CC. Tale metodica rappresenterebbe, quindi, un'alternativa alla terapia con gonadotropine nelle pazienti CC resistenti, essendo una metodica non gravata dal rischio di OHSS e gravidanza multipla. I rischi della metodica sono esclusivamente quelli chirurgici legati all'intervento stesso, dunque minimi se eseguita da personale esperto. Infine, tale metodica non è indicata se finalizzata esclusivamente al ripristino del ciclo mestruale e alla riduzione dell'iperandrogenismo (39).

Tecniche di fecondazione in vitro

Va precisato che l'anovulazione non rappresenta un'indicazione a tecniche di fecondazione in vitro. Tali tecniche, pertanto, non sono indicate nel trattamento dell'infertilità della PCOS quando non coesistano altre condizioni patologiche (endometriosi severa, fattore tubarico, fattore maschile severo) (39).

Bibliografia

1. Franks S. Polycystic ovary syndrome: a changing perspective. Clin Endocrinol, 31:87-120,1989.
2. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K, Manning PJ, West C, Jacobs HS. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. Hum Reprod.,10:2107-11, 1995.
3. Dunaif A. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome: mechanism and implication of pathogenesis. Endocrin Rev, 18: 774-800, 1997.
4. Polson DW, Adams J, Wadsworth J, Franks S. Polycystic ovaries--a common finding in normal women. Lancet, 16: 870-2, 1988.
5. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Fertil Steril., 81:19-25, 2004.
6. NIH Office of Disease Prevention. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome. 2012 Expert Panel Guidelines on PCOS.
7. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF; Androgen Excess Society. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. J Clin Endocrinol Metab., 91:4237-45, 2006.
8. Moran L, Teede H. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome. Hum Reprod Update., 15:477-88, 2009.
9. Dunaif A. 1997 Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. Endocr Rev 18(6): 774- 800.
10. Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, et al. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. Arterioscler Thromb Vasc Biol.; 20:2414–2421, 2000.
11. Vryonidou A, Papatheodorou A, Tavridou A, et al. Association of hyperandrogenemic and metabolic phenotype with carotid intima-media thickness in young women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab.,90:2740–2746, 2005.
12. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, et al. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. Diabetes Care., 22:141–146, 1999.
13. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. Lancet., 365:1415–1428, 2005.

14. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.*, 23:469–480, 2006.
15. Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, et al. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.*, 90:1929–1935, 2005.
16. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 38:1165-74, 1989.
17. Robinson S, Kiddy D, Gelding SV, Willis D, Niththyananthan R, Bush A, Johnston DG, Franks S. The relationship of insulin insensitivity to menstrual pattern in women with hyperandrogenism and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol*, 39:351-5, 1993.
18. Salley KE, Wickham EP, Cheang KI, Essah PA, Karjane NW, Nestler JE. Glucose intolerance in polycystic ovary syndrome—a position statement of the Androgen Excess Society. *J Clin Endocrinol Metab.*, 92:4546-56, 2007.
19. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.*, 81:19-25, 2004.
20. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.*, 19:41-7, 2004.
21. Morales AJ, Laughlin GA, Butzow T, et al. Insulin, somatotrophic, and luteinizing hormone axes in lean and obese women with polycystic ovary syndrome: common and distinct features. *J Clin Endocrinol Metab.*, 81:2854–2864, 1996.
22. Huber-Buchholz MM, Carey DG, Norman RJ. Restoration of reproductive potential by lifestyle modification in obese polycystic ovary syndrome: role of insulin sensitivity and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Apr; 84(4):1470-4.
23. Gaskins, A.J., J.W. Rich-Edwards, et al., Association of Fecundity With Changes in Adult Female Weight. *Obstet Gynecol*, 2015. 126(4): p. 850-8.
24. Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Gambineri A. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod.*, 9:359-72, 2003.
25. Linné Y. Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy. *Obes Rev.*, 5:137-43, 2004.
26. Hassan MA, Killick SR. Negative lifestyle is associated with a significant reduction in fecundity. *Fertil Steril.*, 81:384-92, 2004.
27. Norman, R.J. and Clark, A.M. Obesity and reproductive disorders: a review. *Reprod. Fertil. Dev.*, 10, 55-63, 1998.
28. Hall LF, Neubert AG. Obesity and pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.*, 60:253-60, 2005.
29. Gambineri, A., Pelusi, C., Vicennati, V., Pagotto, U. and Pasquali, R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int. J. Obesity*, 26:883-896, 2002.
30. Pasquali, R. and Casimirri, F. The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome in premenopausal women. *Clin. Endocrinol.*, 39:1-16, 1993.
31. Plymate SR, Jones RE, Matej LA, Friedl KE. Regulation of sex hormone binding globulin (SHBG) production in Hep G2 cells by insulin. *Steroids.* 52:339-40, 1988.
32. Evans, D.J., Hoffmann, R.G., Kalkoff, R.K. and Kissebah, A.H. Relationship of androgenic activity to body fat topography, fat cell morphology and metabolic aberrations in premenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 57:304-310, 1990.
33. Sim, K.A., S.R. Partridge and A. Sainsbury, Does weight loss in overweight or obese women improve fertility treatment outcomes? A systematic review. *Obes Rev*, 2014. 15(10): p. 839-50.
34. Mutsaerts, M.A., A.M. van Oers, et al., Randomized Trial of a Lifestyle Program in Obese Infertile Women. *N Engl J Med*, 2016. 374(20): p. 1942-53.

35. Pirwany I.R., Yates R.W., Cameron I.T., et al: Effects of the insulin sensitizing drug metformin on ovarian function, follicular growth and ovulation rate in obese women with oligomenorrhoea. *Hum Reprod* 1999; 14:2963-2968.
36. Facchinetti F, Bizzarri M, Benvenga S, D'Anna R, Lanzone A, Soulage C, Di Renzo GC, Hod M, Cavalli P, Chiu TT, Kamenov ZA, Bevilacqua A, Carlomagno G, Gerli S, Oliva MM, Devroey P. Results from the International Consensus Conference on Myo-inositol and d-chiro-inositol in Obstetrics and Gynecology: the link between metabolic syndrome and PCOS. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015 Dec;195:72-6
37. Moran LJ, Pasquali R, Teede HJ, Hoeger KM, Norman RJ. Treatment of obesity in polycystic ovary syndrome: a position statement of the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Fertil Steril*, 92:1966-82,2009.
38. Legro RS. Ovulation induction in polycystic ovary syndrome: Current options. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 37 (2016) 152e159
39. Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2008 , 23:462-77. Erratum in: *Hum Reprod.* 2008, 23:1474.
40. Farquhar C, Lilford RJ, Marjoribanks J, Vandekerckhove P. Laparoscopic 'drilling' by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2007.
41. Malkawi HY, Qublan HS, Hamaideh AH. Medical vs. surgical treatment for clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol*, 23:289–293, 2003.

ENDOMETRIOSI ed INFERTILITA'

Coccia Maria Elisabetta, Rizzello Francesca, Ladisa Irene

Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università degli Studi di Firenze

Definizione

L'endometriosi è una malattia benigna estrogeno-dipendente ad andamento cronico, che si caratterizza per la presenza di impianti di stroma e ghiandole endometriali in sede extrauterina. Tali impianti scatenano un'inflammazione cronica reattiva fino a definire cisti ovariche, esiti cicatriziali e aderenze pelviche che possono alterare l'anatomia pelvica della donna [1].

Le lesioni endometriotiche possono riguardare diversi siti incluso il peritoneo pelvico e le ovaie oppure possono infiltrare diverse strutture al di sotto del peritoneo in forma di endometriosi profonda infiltrante. Alla luce delle differenze riguardanti sedi di coinvolgimento, eziopatogenesi, aspetto e risposta ormonale, Nisolle et al. (1997) hanno suggerito che l'endometriosi peritoneale, ovarica e profonda infiltrante rappresentino tre diversi tipi [2]. Le tre diverse entità presentano caratteristiche morfologiche diverse e possono coesistere nella stessa paziente [3].

L'endometriosi può essere associata a sintomatologia dolorosa, infertilità e a diversi altri sintomi (tenesmo, dischezia, ematochezia, stipsi o diarrea, disuria, pollachiuria, ematuria micro- o macroscopica, dolenzia e senso di peso lombo-sacrale e/o agli arti inferiori, nausea, letargia, affaticamento cronico, ecc.). Il 3-45% delle pazienti non presenta sintomatologia [1].

Data la complessità della patologia che non solo si presenta in forme diverse ma anche con sintomatologia variegata, in questo capitolo ci soffermeremo principalmente sulle implicazioni della malattia con la fertilità. Ci sembra doveroso sottolineare, tuttavia, come l'iter diagnostico e il successivo management, in una malattia cronica, non trattabile come l'endometriosi, debba essere personalizzato e non prescindere dallo studio e trattamento della sintomatologia che può coesistere nelle donne infertili con endometriosi.

Epidemiologia

I dati epidemiologici disponibili in letteratura, stimano che il 6-10% della popolazione generale femminile soffra di endometriosi. Nelle donne infertili la prevalenza è stimata tra il 25% ed il 30%

mentre il 30-50% delle pazienti con endometriosi è infertile [4, 5]. Hughes et al. hanno riportato un tasso di fecondità mensile per le pazienti con endometriosi tra il 2 ed il 10%, considerevolmente inferiore a quello della popolazione generale stimato essere tra il 15 e il 20% [6].

Patofisiologia dell'infertilità

La correlazione tra endometriosi ed infertilità è tuttora controversa. Sicuramente la stadiazione più utilizzata, quella dell'American Fertility Society (AFS) [7], evidenzia un'importante correlazione tra lo stadio dell'endometriosi e infertilità.

Nelle forme di III-IV stadio le lesioni tubariche occlusive e la distorsione dell'anatomia pelvica rappresentano una causa accertata di sterilità. Adamson, in una serie personale, riporta un tasso di fertilità del 3% dopo un termine di 12 mesi in caso di endometriosi stadio IV [8]. Studi condotti mediante la fecondazione in vitro (FIVET) hanno suggerito che le donne con endometriosi più severa hanno scarsa riserva ovarica, qualità peggiore degli embrioni e ridotta implantation rate [9–11].

E' invece oggetto di discussione e incertezza quale siano l'impatto e i meccanismi patogenetici dell'endometriosi di I-II stadio sulla fertilità.

Nel corso degli anni, sono state formulate diverse ipotesi a tale riguardo. Tra le più accreditate ricordiamo: interferenza sulla funzionalità ovarica, con disordini della follicologenesi, maturazione ovocitaria, sviluppo embrionale ed impianto. Inoltre, sono segnalate modificazioni sulle componenti del liquido peritoneale e anomalie immunologiche [12]. Queste alterazioni possono comportare effetti avversi su ovociti, sperma, embrioni e funzione tubarica [13, 14]. (Tabella 1).

Alterazione	Modalità azione	Meccanismo proposto
Effetti su ovociti/ovulazione	Ovaio, fluido peritoneale	Effetto meccanico o infiammatorio delle lesioni endometriosiche dell'ovaio
Trasporto dei gameti o pick-up ovocitario	Funzione fluido peritoneale, tube di Falloppio	Alterazione delle citochine, differenza di espressione nei fattori che regolano la funzione tubarica
Tossicità embrionaria	Effetti tossici o infiammatori del fluido peritoneale su gameti o embrioni	Infiammazione, alterazioni ormonali, concentrazioni di LH, attivazione dei macrofagi
Qualità e funzione spermatica	Fluido peritoneale/tube di Falloppio	Effetti infiammatori o tossici del fluido peritoneale o dei macrofagi su numero e funzione degli spermatozoi
Alterate contrazioni miometriali	Utero, tube di Falloppio	Trasporto gameti, impianto embrioni
Distorsione anatomia pelvica	Utero, tube, ovaie, cervice	Alterazioni meccaniche che impediscono il trasporto e la fertilizzazione dell'ovocita, il trasporto dell'embrione
Difetto della fase luteale	Sistema endocrino	Disfunzione ovulatoria, resistenza al progesterone
Recettività endometriale	Sistema endocrino, Citochine infiammatorie	Resistenza al progesterone, espressione dell'aromatasi, altre cause?
<i>Tabella 1: Possibili modalità di interferenza della patologia endometriosica sul processo riproduttivo [15].</i>		

Effetto su gameti ed embrioni

Gli effetti infiammatori derivanti dall'endometriosi hanno mostrato influenzare sia la produzione di ovociti che l'ovulazione [11, 15, 16]. Inoltre, è stata evidenziata un'alterazione della fase luteale che

può derivare dalla disregolazione del recettore del progesterone e dall'effetto sui geni bersaglio del progesterone [12, 15].

E' stato dimostrato che l'aumento del numero di cellule infiammatorie nel liquido peritoneale, non solo danneggia gli ovociti e gli spermatozoi, ma comporta degli effetti tossici sugli embrioni [17]. Alcuni studi hanno dimostrato l'espressione aberrante di glutatione perossidasi e catalasi nell'endometrio di pazienti con endometriosi e si può ritenere anche un aumento di radicali liberi endometriali e, di conseguenza, un effetto negativo sulla viability degli embrioni [18, 19].

Nel caso dell'endometriosi profonda, che si riscontra isolatamente in solo il 6 % delle pazienti [20], l'infiammazione locale non sembrerebbe raggiungere la cavità peritoneale e quindi non interferirebbe con i processi del concepimento [21]. Un effetto indiretto della endometriosi profonda sulla fertilità potrebbe essere legato alla riduzione della funzione sessuale secondaria alla dispareunia che può associarsi a questo fenotipo.

Effetto sulle tube di Falloppio e sul trasporto degli embrioni

Il trasporto dei gameti è influenzato dall'incremento di citochine infiammatorie. Lo stato infiammatorio compromette la funzione delle tube e diminuisce la motilità tubarica. In campioni di epitelio tubarico, è stata riscontrata una riduzione significativa della frequenza del battito ciliare tubarico nelle pazienti con endometriosi rispetto ai controlli [22]. Analogamente, sono state evidenziate alterazioni delle contrazioni miometriali associate con l'endometriosi che potrebbero alterare il trasporto di gameti e l'impianto degli embrioni [12, 15].

Effetto sull'endometrio

Oltre agli effetti infiammatori sopra menzionati, vi sono crescenti evidenze che supportano come nella paziente con endometriosi vi siano alterazioni anche a livello dell'endometrio eutopico. L'impianto embrionale è un evento complesso coinvolgente l'apposizione seguita dall'adesione della blastocisti all'endometrio materno. Sebbene l'impianto possa avvenire in ogni tessuto animale, l'endometrio è l'unico tessuto dove non è permesso al di fuori di un periodo ristretto chiamato 'finestra d'impianto'. Nonostante i progressi compiuti nelle tecniche di riproduzione assistita, la mancanza di controllo dell'impianto rimane uno dei maggiori limiti alla gravidanza. Nell'endometrio di donne con endometriosi, numerosi geni importanti per la recettività endometriale sono espressi in modo aberrante. Tuttavia il meccanismo e il segnale specifico che ne causino l'alterazione non sono ben caratterizzati [12].

Recentemente, Santamaria et al. hanno pubblicato dei dati che dimostrano come le cellule degli impianti endometriali ectopici migrino a livello dell'endometrio eutopico [23]. L'endometriosi

sperimentale è stata indotta con l'impianto di tessuto endometriale proveniente da topi dalla proteina verde fluorescente (GFP) nella cavità peritoneale di topi DS-Red. Cellule GFP-positive sono state trovate a livello dell'endometrio eutopico, principalmente nello strato basale, di topi con endometriosi sperimentale. Inoltre, il profilo di espressione genica delle cellule GFP-positive ha mostrato una maggiore espressione di marcatori pan-epiteliali e, più interessante, upregulation di espressione Wnt7A insieme con 17 altri geni nel wntless pathway. Wnt7a è essenziale per la crescita uterina estrogeno-mediata e l'impianto nel topo, probabilmente fungendo da segnale tra epitelio e stroma [24–26]. Liu et al. [27] hanno ipotizzato che l'attivazione aberrante del pathway Wnt disturba lo sviluppo dell'endometrio durante la finestra di impianto. L'aumentata espressione di Wnt7a ectopica probabilmente sconvolge la normale polarità epitelio-stromale richiesta per la fertilità [23]. Verosimilmente vi è uno spostamento bidirezionale di cellule tra il tessuto endometriale eutopico ed ectopico. Le cellule riprogrammate e posizionate in modo anomalo che sono 'tornate' all'endometrio, generano il segnale che porta ad un'espressione genica anomala e al mancato impianto [12].

Ci sono molti altri studi che propongono come l'espressione genica aberrante nell'endometrio eutopico ed ectopico possa essere correlata alla sterilità o alla patogenesi della malattia. Un esempio di espressione genica aberrante è quella del gene HOXA10. Questo gene è direttamente coinvolto nella embriogenesi dell'utero e, successivamente, nella rigenerazione dell'endometrio in ogni ciclo mestruale. L'espressione di questo gene è necessaria per la recettività endometriale. I topi con una distruzione mirata del gene HOXA10 mostrano perdita completa della recettività endometriale. Allo stesso modo, le donne con bassi livelli di espressione di HOXA10 hanno tassi più bassi di impianto. Nelle donne, l'espressione ciclica di questo gene nell'endometrio raggiunge il picco durante la finestra di impianto in risposta agli estrogeni e al progesterone. Le donne con endometriosi, tuttavia, non presentano l'aumento nella metà luteale, come ci si aspetterebbe [28].

L'aromatasi, enzima chiave per la sintesi di estradiolo, catalizzando la conversione dell'androstenedione e del testosterone, di origine ovarica e surrenalica, in estrone ed estradiolo rispettivamente, è stata ampiamente studiata nell'endometriosi. E' stato dimostrato che livelli anomali di aromatasi sono presenti sia negli impianti endometriosici che nell'endometrio eutopico, con possibile accumulo tissutale di estradiolo e quindi stimolazione degli impianti endometriosici stessi [29, 30].

I recettori per il progesterone hanno dimostrato di essere alterati sia nell'endometrio eutopico che ectopico. Nell'endometrio normale si osserva la Down-regolazione dei recettori prima dell'impianto, mentre appare ritardata nell'endometrio ectopico [31]. Inoltre, sia l'endometrio

eutopico che ectopico hanno dimostrato di essere resistenti al progesterone, causando uno stato estrogenico non bilanciato che non favorisce l'impianto [32].

Studi recenti hanno mostrato un'associazione tra la anomala resistenza al progesterone e l'inappropriata persistente espressione di metalloproteinasi della matrice, che degradano la matrice extracellulare [33]. Le metalloproteinasi della matrice sono normalmente inibite dal progesterone nella fase secretoria, ma nel contesto dell'endometriosi, rimangono elevate durante fasi inappropriate, come l'impianto. La disinibizione di queste proteine potrebbe teoricamente portare ad un ambiente di degradazione costante della matrice che non favorisce l'impianto.

In condizioni normali, contemporaneamente all'inibizione dei recettori del progesterone durante l'impianto, l'espressione epiteliale di $\alpha\beta$ -integrina, un marker di recettività uterina, è normalmente aumentata [34]. Pazienti con endometriosi hanno una minore espressione di questa molecola, che può interferire con l'adesione dell'embrione nell'impianto [34, 35].

Inoltre recentemente in alcune donne con endometriosi sono stati riscontrati livelli molto bassi di un enzima coinvolto nella sintesi del ligando endometriale per L-selectina (una proteina che riveste il trofoblasto sulla superficie della blastocisti) [36].

Endometriosi ovarica

Quando l'endometriosi si estende alle ovaie, formando cisti o endometriomi tramite l'effetto 'occupante spazio', le reazioni locali, o entrambi, può ridurre la quantità di tessuto ovarico funzionale disponibile, che può essere ulteriormente aggravata dall'eventuale trattamento chirurgico [37].

Sebbene ad oggi il miglior approccio chirurgico per gli endometriomi sia ancora discusso, è invece unanimemente accettato che qualsiasi tipo di intervento chirurgico potrebbe causare ulteriori danni alla già compromessa funzione ovarica [38].

In generale, il calo dei follicoli ovarici che si verifica nel corso della vita sembra non ostacolare notevolmente la probabilità di concepimento prima dei 37 anni di età. Tuttavia, questo deterioramento può avvenire in età più precoce in caso di endometriomi ovarici [38].

Quando la riduzione del numero di follicoli ovarici è il risultato del normale processo di invecchiamento (cioè, in donne con più di 40 anni), i dati da studi condotti sui cicli di fecondazione assistita, indicano un parallelo calo della qualità ovocitaria [29]. Questo risultato non si verifica se il numero di follicoli ovarici è ridotta in donne più giovani con endometriosi [26].

Alcuni studi indicano che i tassi di fecondazione sono ridotti nelle donne con endometriosi [34]. Al contrario, i dati dalla fecondazione assistita fanno pensare che un effetto di endometriosi sulla qualità degli ovociti è probabilmente minimo, perché i tassi di gravidanza sono conservati in donne con endometriosi, anche in quelli con scarsa risposta alla stimolazione ovarica controllata [26, 39, 40].

Diagnosi

Clinica

L'endometriosi in pazienti infertili deve essere sempre essere sospettata in presenza di una sintomatologia suggestiva (GPP) [41]. Numerosi studi riportano una lunga serie di sintomi associate ad endometriosi, incluso la dismenorrea, il dolore pelvico cronico, la dispareunia profonda, dolori intestinali ciclici, tuttavia nessuno di questi sintomi è patognomonico per l'endometriosi ed il valore predittivo positivo è ridotto [1].

L'esame clinico può aiutare nella diagnosi e include l'ispezione vaginale con lo speculum e la palpazione bimanuale e rettovaginale [42, 43]. Il sospetto di endometriosi è supportato da reperti come noduli o addensamenti della parete rettovaginale o noduli vaginali visibili nel fornice vaginale posteriore [42] ed eventualmente masse annessiali [42, 44–46]. Tuttavia anche in assenza di reperti obiettivi, in pazienti infertile sintomatica, la diagnosi di endometriosi non deve essere esclusa [41, 43] (GPP).

Ecografia transvaginale

L'ecografia transvaginale rappresenta un metodo diagnostico non invasivo, riproducibile, con un buon rapporto costo/beneficio [47, 48].

Un endometrioma ovarico è descritto come tessuto ipoecogeno, persistente, ovalare, omogeneo con un contenuto a vetro smerigliato, pareti regolari e con una chiara demarcazione rispetto al parenchima ovarico circostante (figura 1) [49]. Gli impianti di endometriosi profonda infiltrante sono sospettati sulla base di noduli o masse, a contorni più o meno regolari, con sottili echi lineari che si dipartono dal centro della formazione ('a cappello di indiano') (figura 2) [50].



Figura 1: endometrioma ovarico, immagine Ecografia Transvaginale

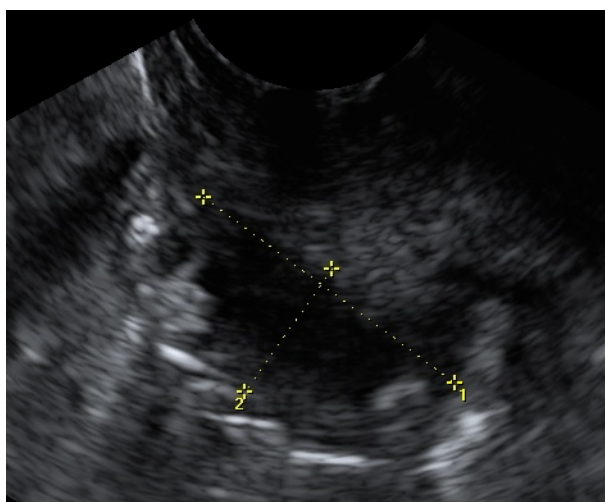


Figura 2: endometriosi profonda infiltrante, immagine Ecografia Transvaginale

Molti studi hanno validato la diagnosi non chirurgica dell'endometrioma e dell'endometriosi profonda infiltrante, con una sensibilità dell'81-89% e specificità del 91-97% per l'endometrioma ovarico e del 74-91% e 88-89% per l'endometriosi profonda infiltrante vaginale e retto-vaginale [47, 50, 51].

Il limite dell'ecografia rimane legato alla caratteristica operatore-dipendenza dell'esame. Una recente Cochrane ha infatti concluso che ad oggi ancora nessun esame di imaging si può sostituire alla laparoscopia nella diagnosi dell'endometriosi [3].

In mani esperte l'ecografia trans-vaginale rimane l'esame di riferimento per escludere o confermare la diagnosi di endometrioma ed endometriosi vaginale/rettale, soprattutto in donne sintomatiche (Livello A di raccomandazione secondo le linee guida ESHRE 2014) [41].

Il ruolo dell'ecografia transvaginale tri-dimensionale e della risonanza magnetica per la diagnosi dell'endometriosi non è ancora stabilito (Livello D di raccomandazione secondo le linee guida

ESHRE 2014) [41]. In caso di sospetto coinvolgimento di altri organi come uretere, vescica, intestino si dovrà ricorrere a metodi diagnostici aggiuntivi per chiarire il quadro (Livello GPP di raccomandazione secondo le linee guida ESHRE 2014) [41].

Inoltre, l'utilità dei markers biochimici incluso il Ca125 non è stata confermata, per cui non andrebbero richiesti come supporto a una diagnosi di endometriosi (Livello A di raccomandazione secondo le linee guida ESHRE 2014) [41].

Laparoscopia diagnostica

La laparoscopia diagnostica con esame istologico delle lesioni, rimane il gold standard per la diagnosi e lo staging definitivi dell'endometriosi. Tuttavia, anche la sola laparoscopia diagnostica in assenza di esame istologico è considerata sufficiente ai fini diagnostici. Infatti un esame istologico positivo conferma la diagnosi istologica, se negativo non è sufficiente ad escluderne la diagnosi (Livello GPP di raccomandazione secondo le linee guida ESHRE 2014) [41]. Le linee guida più recenti, data l'invasività dell'esame laparoscopico, l'accuratezza dell'ecografia trans-vaginale e le nuove indicazioni sul management dell'endometriosi associate ad infertilità, sempre più orientate ad un approccio maggiormente conservativo, suggeriscono di effettuare la laparoscopia diagnostica nei casi di infertilità inspiegata nei quali si sospettino comorbidità quali patologia infiammatoria pelvica, endometriosi minima lieve o in casi di pregressa gravidanza ectopica [5, 41, 52]. Inoltre, nei casi in cui si effettui una laparoscopia diagnostica in una paziente infertile asintomatica, in assenza di segni ecografici di endometriosi, la possibile diagnosi e quindi trattamento dell'endometriosi minima non è dimostrata come efficace nel trattamento dell'infertilità [53].

Conclusioni

Nonostante sia tra le malattie più studiate, ad oggi l'endometriosi rimane una patologia enigmatica e gli stessi effetti sulla fertilità sono controversi nella letteratura medica internazionale. Certamente rappresenta una patologia che quantomeno coinvolge globalmente la salute della donna, compresa la sfera riproduttiva, in modo multiforme e con svariati gradi di severità/aggressività. Emerge come numerosi dati indichino che vi sia un'associazione tra endometriosi e infertilità e tale associazione sembra essere multifattoriale, dovuta a cause meccaniche, molecolari, genetiche e ambientali. La diagnosi precoce ed il corretto management quando essa sia associata ad infertilità, rivestono un ruolo quanto mai importante in quanto l'instaurarsi della gravidanza stessa può avere un impatto positivo sulla storia naturale della malattia [54, 55].

Bibliografia

- [1] Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E, ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod Oxf Engl* 2005;20(10):2698–2704.
- [2] Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril* 1997;68(4):585–596.
- [3] Nisenblat V, Bossuyt PM, Farquhar C, Johnson N, Hull ML. Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;2:CD009591.
- [4] GISE. Prevalence and anatomical distribution of endometriosis in women with selected gynaecological conditions: results from a multicentric Italian study. Gruppo italiano per lo studio dell'endometriosi. *Hum Reprod Oxf Engl* 1994;9(6):1158–1162.
- [5] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98(3):591–598.
- [6] Hughes EG, Fedorkow DM, Collins JA. A quantitative overview of controlled trials in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 1993;59(5):963–970.
- [7] American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67(5):817–21.
- [8] Adamson D. Endometriosis: traditional perspectives, current evidence and future possibilities. *Int J Fertil Womens Med* 2001;46(3):151–168.
- [9] Brosens I. Endometriosis and the outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004;81(5):1198–1200.
- [10] Olivennes F. [Results of IVF in women with endometriosis]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2003;32(8):S45–47.
- [11] Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Impact of endometriosis on in vitro fertilization and embryo transfer cycles in young women: a stage-dependent interference. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011;90(11):1232–1238.
- [12] Macer M L, Taylor HS. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2012;39(4):535–549.
- [13] Mahutte NG, Arici A. New advances in the understanding of endometriosis related infertility. *J Reprod Immunol* 2002;55(1–2):73–83.
- [14] Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril* 1998;70(3):425–431.
- [15] Holoch KJ, Lessey BA. Endometriosis and infertility. *Clin Obstet Gynecol* 2010;53(2):429–438.
- [16] Coccia ME, Rizzello F, Barone S, Pinelli S, Rapalini E, Parri C, Caracciolo D, Papageorgiou S,

- Cima G, Gandini L. Is there a critical endometrioma size associated with reduced ovarian responsiveness in assisted reproduction techniques? *Reprod Biomed Online* 2014;29(2):259–266.
- [17] Morcos RN, Gibbons WE, Findley WE. Effect of peritoneal fluid on in vitro cleavage of 2-cell mouse embryos: possible role in infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1985;44(5):678–683.
- [18] Ota H, Igarashi S, Kato N, Tanaka T. Aberrant expression of glutathione peroxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril* 2000;74(2):313–318.
- [19] Ota H, Igarashi S, Sato N, Tanaka H, Tanaka T. Involvement of catalase in the endometrium of patients with endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril* 2002;78(4):804–809.
- [20] Somigliana E, Infantino M, Candiani M, Vignali M, Chiodini A, Busacca M, Vignali M. Association rate between deep peritoneal endometriosis and other forms of the disease: pathogenetic implications. *Hum Reprod Oxf Engl* 2004;19(1):168–171.
- [21] Vercellini P, Barbara G, Buggio L, Frattaruolo MP, Somigliana E, Fedele L. Effect of patient selection on estimate of reproductive success after surgery for rectovaginal endometriosis: literature review. *Reprod Biomed Online* 2012;24(4):389–395.
- [22] Lyons RA, Djahanbakhch O, Saridogan E, Naftalin AA, Mahmood T, Weekes A, Chenoy R. Peritoneal fluid, endometriosis, and ciliary beat frequency in the human fallopian tube. *The Lancet* 2002;360(9341):1221–1222.
- [23] Santamaria X, Massasa EE, Taylor HS, Migration of cells from experimental endometriosis to the uterine endometrium. *Endocrinology* 2012;153(11):5566–5574.
- [24] Hou X, Tan Y, Li M, Dey SK, Das SK. Canonical Wnt signaling is critical to estrogen-mediated uterine growth. *Mol Endocrinol Baltim Md* 2004;18(12):3035–3049.
- [25] Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 2003;144(7):2870–2881.
- [26] Mohamed OA, Jonnaert M, Labelle-Dumais C, Kuroda K, Clarke HJ, Dufort D. Uterine Wnt/beta-catenin signaling is required for implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(24):8579–8584.
- [27] Liu Y, Kodithuwakku SP, Ng PY, Chai J, Ng EH, Yeung WS, Ho PC, Lee KF. Excessive ovarian stimulation up-regulates the Wnt-signaling molecule DKK1 in human endometrium and may affect implantation: an in vitro co-culture study. *Hum Reprod Oxf Engl* 2010;25(2):479–490.
- [28] Taylor HS, Bagot C, Kardana A, Olive D, Arici A. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Hum Reprod Oxf Engl* 1999;14(5):1328–1331.
- [29] Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Ferti Steril* 1999;72(6):961–969.
- [30] Bulun SE, Fang Z, Imir G, Gurates B, Tamura M, Yilmaz B, Langoi D, Amin S, Yang S, Deb S. Aromatase and endometriosis. *Semin Reprod Med* 2004;22(1):45–50.
- [31] Mote PA, Balleine RL, McGowan EM, Clarke CL. Colocalization of progesterone receptors A and B by dual immunofluorescent histochemistry in human endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(8):2963–2971.

- [32] Lessey BA, Yeh I, Castelbaum AJ, Fritz MA, Ilesanmi AO, Korzeniowski P, Sun J, Chwalisz K. Endometrial progesterone receptors and markers of uterine receptivity in the window of implantation. *Fertil Steril* 1996;65(3):477–483.
- [33] Osteen KG, Keller NR, Feltus FA, Melner MH. Paracrine regulation of matrix metalloproteinase expression in the normal human endometrium. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48(1):2–13.
- [34] Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79(2):643–649.
- [35] Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet Lond Engl* 2004;364(9447):1789–1799.
- [36] Practice Committee of the American Society for Reproductive and Medicine (ASRM). Endometriosis and Infertility. *Fertil Steril* 2006;56–60.
- [37] de Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *The Lancet* 2010;376(9742):730–738.
- [38] Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause. *Hum Reprod Oxf Engl* 2011;26(11):3000–3007.
- [39] Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1127:92–100.
- [40] Taylor HS, Osteen KG, Bruner-Tran KL, Lockwood CJ, Krikun G, Sokalska A, Duleba AJ. Novel therapies targeting endometriosis. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif* 2011;18(9):814–823.
- [41] Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, Heikinheimo O, Horne AW, Kiesel L, Nap A, Prentice A, Saridogan E, Soriano D, Nelen W; European Society of Human Reproduction and Embryology. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod Oxf Engl* 2014;29(3):400–412.
- [42] Bazot M, Lafont C, Rouzier R, Roseau G, Thomassin-Naggara I, Darai E. Diagnostic accuracy of physical examination, transvaginal sonography, rectal endoscopic sonography, and magnetic resonance imaging to diagnose deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2009;92(6):1825–1833.
- [43] Chapron C, Dubuisson JB, Pansini V, Vieira M, Fauconnier A, Barakat H, Dousset B. Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002;9(2):115–119.
- [44] Condous G, Van Calster B, Van Huffel S, Lam A. What is the value of preoperative bimanual pelvic examination in women undergoing laparoscopic total hysterectomy? *J Minim Invasive Gynecol* 2007;14(3):334–338.
- [45] Eskenazi B, Warner M, Bonsignore L, Olive D, Samuels S, Vercellini P. Validation study of nonsurgical diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;76(5):929–935.
- [46] Ripps BA, Martin DC. Correlation of focal pelvic tenderness with implant dimension and stage of endometriosis. *J Reprod Med* 1992;37(7):620–624.
- [47] Coccia ME, Rizzello F. Ultrasonographic staging: a new staging system for deep endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1221:61–69.

- [48] Menakaya U, Reid S, Lu C, Bassem G, Infante F, Condous G. Performance of ultrasound-based endometriosis staging system (UBESS) for predicting level of complexity of laparoscopic surgery for endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;48(6):786–795.
- [49] Van Holsbeke C, Van Calster B, Guerriero S, Savelli L, Paladini D, Lissoni AA, Czekierdowski A, Fischerova D, Zhang J, Mestdagh G, Testa AC, Bourne T, Valentin L, Timmerman D. Endometriomas: their ultrasound characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;35(6):730–740.
- [50] Guerriero S, Ajossa S, Gerada M, Virgilio B, Angioni S, Melis GB. Diagnostic value of transvaginal ‘tenderness-guided’ ultrasonography for the prediction of location of deep endometriosis. *Hum Reprod Oxf Engl* 2008;23(11):2452–2457.
- [51] Guerriero S, Mais V, Ajossa S, Paoletti AM, Angiolucci M, Labate F, Melis GB. The role of endovaginal ultrasound in differentiating endometriomas from other ovarian cysts. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1995;22(1):20–22.
- [52] NICE | The National Institute for Health and Care Excellence. Fertility problems: assessment and fertility problems: assessment and treatment treatment Clinical guideline 2013.
- [53] Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, Farquhar C, Koninckx PR, Olive D. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;1:CD001398.
- [54] Coccia ME, Rizzello F, Palagiano A, and Scarselli G. Long-term follow-up after laparoscopic treatment for endometriosis: multivariate analysis of predictive factors for recurrence of endometriotic lesions and pain. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;157(1):78–83.
- [55] Coccia ME, Rizzello F, Palagiano A, and Scarselli G. The effect of the hormonal milieu of pregnancy on deep infiltrating endometriosis: serial ultrasound assessment of changes in size and pattern of deep endometriotic lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;160(1):35–39.

MIOMI UTERINI

Giovanni Battista La Sala, Stefano Palomba

SOC di Ginecologia, Ostetricia e Medicina della Riproduzione

Arcispedale Santa Maria Nuova – IRCCS di Reggio Emilia

Introduzione

I leiomiomi o fibromi o miomi sono i tumori più comuni dell'utero. Secondo gli studi della letteratura dal 5 al 77% delle donne in età riproduttiva sono portatrici di miomi (1). Nelle donne africane, l'incidenza dei miomi è tre volte superiore a quella riscontrata nelle donne caucasiche (2). I principali fattori di rischio nelle donne caucasiche sono la nulliparità, il fumo di sigaretta e le alterazioni del ciclo mestruale quali la menorragia e la menometrorragia (3-5). L'età avanzata rappresenta un fattore di rischio indipendente dall'etnia di appartenenza (4). Dal 2.7 al 12.6% delle donne gravide è affetta da miomi uterini (6) e dal 12.6 al 25% delle donne che si sottopongono alle tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA) (7,8). Poichè nelle società industrializzate la prima gravidanza viene sempre di più posticipata, il riscontro di miomi in donne in età riproduttiva e desiderose di prole è già un evento frequente e, verosimilmente, è destinato ad esserlo ancora di più in futuro.

Diverse classificazioni dei miomi uterini sono disponibili in letteratura. I miomi sono generalmente classificati (9) in miomi sottomucosi (MSM), miomi intramurali (MIM), miomi sottosierosi (MSS), e miomi peduncolati (MP). I MSM sono i miomi che occupano/deformano la cavità uterina e si distinguono, a loro volta, in tre sottogruppi in relazione al loro rapporto con la superficie endometriale: MSM G00, miomi totalmente intracavitari e che non si estendono al miometrio; MSM G1, miomi parzialmente intracavitari e con estensione intramiometriale (intramurale) per meno del 50% della loro grandezza; e MSM G2, miomi minimamente intracavitari e con estensione intramurale per più del 50% della loro grandezza. Miomi che protrudono dal miometrio verso il perimetrio per meno o per più del 50% della loro grandezza sono detti, rispettivamente, MIM e MSS. Infine, i MP sono miomi totalmente intra-addominali che non impattano la *silhouette* uterina.

L'ecografia con sonda vaginale bidimensionale e/o la sonoisterosalpingografia (SIS) pongono il sospetto di MSM o di MIM deformante la cavità uterina (10-12). L'isteroscopia rimane l'indagine *gold standard* per la diagnosi e la classificazione dei MS. E' evidente che nella pratica clinica solo l'integrazione ecografia – isteroscopia può permettere la diagnosi differenziale tra MSM G1 e MS G2 e tra MSM G2 e MIM deformante la cavità uterina (12). L'impiego delle metodiche ecografiche tri e quadri-dimensionali può essere, in mani esperte, di grande ausilio ma non può essere considerato il *golden standard* in un *setting* clinico. Infine, la tomografia assiale computerizzata (TAC) e la risonanza magnetica nucleare (RMN) sono di scarsa o nulla utilità clinica, sebbene alcuni studi scientifici mostrino come la RMN

sia efficace nel “mappare” l’utero al fine di una precisa collocazione spaziale del mioma stesso soprattutto in caso di chirurgia laparoscopica di MIM che non impattano la superficie sierosa.

Come di seguito dettagliato, la presenza di miomi uterini è stata associata a *chance* riproduttive peggiori sia in termini di fertilità spontanea sia secondaria a tecniche di PMA, sebbene la loro terapia ha dato risultati contrastanti. I miomi uterini, inoltre, sono fattori di rischio per gravidanze complicate e per *outcome* materno-fetali e perinatali sfavorevoli.

Miomi e fertilità femminile naturale e assistita

I miomi sono considerati come unica causa d'infertilità in meno del 3% delle coppie con infertilità involontaria (7). Nonostante le numerose e più o meno plausibili ipotesi proposte dalla letteratura, la patogenesi dell'infertilità femminile da miomi rimane tuttora sconosciuta (8).

Malgrado scarse evidenze, i MP e/o i MSS non sembrano avere un effetto significativo sulla fertilità con un buon accordo tra le review sistematiche e le meta-analisi presenti in letteratura (14-17). Allo stesso modo, vi è anche una chiara evidenza scientifica che i MSM siano associati a infertilità femminile (6,15,16). Il rischio relativo (RR) di ottenere una gravidanza in presenza di MSM è 0.363 e l'odds ratio (OR) varia tra 0.3 e 0.44. Il RR e l'OR di avere un bimbo in presenza di un MSM è 0.3 (6,15,16). In presenza di un MSM, il RR e l'OR di avere un aborto spontaneo nel primo trimestre sono, rispettivamente, 1.7 e 3.9 (6,15). Una review sistematica con meta-analisi (15) ha evidenziato che donne infertili con MSM hanno una riduzione dei tassi di impianto (RR 0.3, 95%CI 0.1 to 0.7) e di gravidanze evolutive/nati vivi (RR 0.3, 95%CI 0.1 to 0.9) rispetto a controlli senza MSM. I meccanismi che impattano la fertilità in caso di MSM sono incerti. In letteratura, vi sono evidenze sperimentali che essi possano ridurre la recettività endometriale e le potenzialità di un fisiologico impianto (18); a tal proposito, in un importante ed elegante studio sperimentale è stata evidenziata in donne con MSM una riduzione dell'espressività di HOXA a livello dell'endometrio ricoprente il mioma rispetto all'endometrio circostante (19).

Al contrario dei MSM e MP/MSS, i dati riguardanti l'associazione tra MIM e infertilità femminile sono disparati e discordanti tra loro. La grande maggioranza degli studi sono retrospettivi e non in tutti gli studi è stata eseguita isteroscopia diagnostica di conferma. Gli studi retrospettivi, in cui non erano disponibili i dati derivanti dalla conferma isteroscopica, riportano una riduzione della percentuale di gravidanze cliniche e un aumento della percentuale di aborto spontaneo, mentre quelli prospettici in cui la diagnosi è stata confermata isteroscopicamente, non riportano né una riduzione della percentuale delle gravidanze cliniche né un aumento della percentuale dell'aborto spontaneo. Un effetto avverso dei MIM è stato evidenziato in una iniziale meta-analisi (15) ma non in una successiva (17) (RR 1.9, 95%CI 1.5 a 2.4 and RR 1.2, 95%CI 1.0 a 1.6, rispettivamente). In entrambe le meta-analisi (15,17), tuttavia, i MIM

risultavano associati a un deleterio effetto sul tasso di nati vivi (RR 0.7, 95%CI 0.6 a 0.8 and RR 0.8, 95%CI 0.7 a 0.9; rispettivamente).

In pazienti sottoposte a tecniche di PMA, dati meta-analitici hanno mostrato una riduzione di tassi di impianto in donne con MIM (RR 0.8, 95%CI 0.7 a 0.9) (15). Anche in un'altra meta-analisi (17), donne infertili sottoposte a cicli di PMA con età inferiore ai 37 anni e affette da MIM risultavano avere una riduzione dei tassi di nati vivi (RR 0.8, 95%CI 0.6 a 0.9) rispetto al controllo di pari età non affetto da miomi. Al contrario, una più recente review sistematica con meta-analisi (14) non ha evidenziato alcun effetto di MIM non deformanti la cavità uterina su nessun *outcome* riproduttivo sia in concepimenti naturali sia assistiti. Le più recenti review sistematiche disponibili, tuttavia, hanno riportato che i MIM riducono del 15% la percentuale delle gravidanze cliniche nelle donne sottoposte alle tecniche di PMA (17) e quella di nati vivi di circa il 20-30% (16,17). La grandezza dei MIM non sembra direttamente correlata con gli *outcome* riproduttivi delle donne affette da infertilità (15). Al contrario, non esistono dati relativi alla correlazione tra numerosità dei MIM e la fertilità femminile.

Un capitolo formalmente e totalmente inesplorato riguarda l'effetto di miomi uterini e/o la necessità di miomectomia "profilattica" in pazienti che si sottopongono a PMA eterologa. In tali pazienti il rischio della presenza di mioma si controbilancia con quello da danno miometriale/endometriale iatrogeno da chirurgia. In linea puramente teorica, l'indicazione alla miomectomia potrebbe essere motivata in caso di importante impatto cavitario. Al contrario, MIM, MSS, MP una "profilattica" procedura di miomectomia non dovrebbe essere indicata. Difficile poter dare una indicazione o suggerimento in caso di fallimento ripetuto dell'impianto dopo PMA eterologa poiché la sua stessa definizione andrebbe rivista in tali casi. Specifici studi a riguardo sono, tuttavia, necessari prima di poter dare raccomandazioni corrette e basate sull'evidenza.

Miomi e *outcome* materno-fetali e perinatali

Una recente review sistematica (20) ha evidenziato come i miomi uterini siano solo un fattore di rischio non solo per subfertilità naturale o "assistita" ma anche di aumentato rischio di eventi avversi materno-fetale e perinatali. Sebbene i livelli di evidenza siano risultati bassi, gli studi disponibili hanno mostrato una qualità moderata (20). L'evidenza disponibile che supporta un'associazione tra miomi e complicanze ostetrico-perinatali, infatti, è molto eterogenea per significativa disparità di risultati tra gli studi disponibili (6,21,22). Gli studi di miglior qualità, sebbene prospettici di coorte, suggeriscono, tuttavia, che miomi di grandi dimensioni (superiori ai 5 cm) abbiano un effetto promuovente gli eventi avversi gravidici e perinatali (23,24). Donne con miomi di dimensioni superiori ai 5 cm, infatti, hanno un eccesso di circa il 10% dell'incidenza di parto pretermine in confronto a donne con miomi più piccoli o senza miomi (35% versus 24.5% versus 25.5%, rispettivamente) (24).

Un aumentato rischio di taglio cesareo è stato riscontrato in donne con singolo mioma di 3 cm o più di diametro (aRR 1.2, 95%CI 1.1 a 1.3) (23). La presenza di miomi uterini è stata associata, inoltre, anche con un'aumentata incidenza di parto pretermine (6,21,22,25) e mortalità neonatale (aOR 2.7, 95%CI 1.0 a 6.9), sebbene la letteratura disponibile riguardi essenzialmente studi retrospettivi osservazionali. L'associazione tra miomi e mortalità fetale sembrerebbe riguardare epoche gestazionali inferiori alla <32° settimana (aOR 4.2, 95%CI 1.2 to 14.7). Al contrario, l'analisi di gravidanze con epoche gestazionali >32° settimana sembrerebbe non mostrare un effetto significativo (aOR 0.8, 95%CI 0.1 a 6.2) (21).

Al momento, non ci sono forti evidenze circa l'associazione tra miomi uterini e rottura precoce prematura rottura di membrane (PPRM), ritardo intrauterino di crescita (IUGR) fetale, placenta previa and distacco di placenta normalmente inserita (6,26). In particolare, il distacco di placenta non sembra associato ai miomi uterini (6). L'associazione più stretta e significativa è stata rilevata con MSM con localizzazione retroplacentare, sebbene tale rischio sia comunque basso e non modificabile con la miomectomia (27,28).

Estremamente incerti sono anche i dati disponibili circa l'effetto della miomectomia sugli *outcome* riproduttivi. La chirurgia per MIM non ha un effetto significativo sulla gravidanza (15). Nessun effetto della miomectomia sui tassi di abortività è stata anche osservata in donne con MSM rispetto a donne con miomi non selezionate per sede del mioma/i (15).

In realtà, nella paziente infertile con mioma/i uterino/i è indicato e comunemente effettuata procedura di miomectomia in caso di infertilità inspiegata di coppia. Tale concetto di per sé include una attesa al concepimento di almeno 12 mesi cosa che introduce un importante *bias* di selezione e/o fattore confondente che è il *time-to-pregnancy* (tempo-alla-gravidanza, TTP) che è un chiaro e ben definito fattore indipendente di avversi *outcome* materno-fetali e perinatali (20). Similmente, la presenza di miomi uterini è associata a iperestrogenismo assoluto e/o relativo quando tipico dell'obesità e l'obesità è un ulteriore fattore confondente che spesso è associato a gravidanza e/o nascita complicata con un livello di evidenza 1-2 e una qualità dell'evidenza moderato-alta (20).

Poiché un elevato numero di donne infertili presenta miomi uterini, gli stessi miomi sono un importante fattore amplificante il rischio insito in ogni specifica procedura e/o *step* di PMA (29). Tuttavia, il reale "peso" clinico della presenza di miomi uterini o di pregressa miomectomia sul rischio di complicanza materno-fetale nella paziente sottoposta a cicli di PMA è tuttora argomento di dibattito scientifico.

Trattamento

MSM

Nelle coppie con infertilità involontaria e in quelle candidate alle tecniche di PMA, si preferisce sottoporre le donne con MSM a procedure preventive di miomectomia isteroscopica, sebbene i dati ad oggi disponibili in letteratura siano solo incoraggianti ma non conclusivi (18,30-32).

A tal proposito, in pazienti infertili, nessuna differenza è stata osservata tra donne che avevano ricevuto una miomectomia in confronto a quelle prive di fibromi (15,33). Tale osservazione suggerisce che la miomectomia non ha un effetto determinante in termini riproduttivi. Una recente Cochrane review (34) ha evidenziato la presenza di un solo RCT in letteratura che comparava la miomectomia isteroscopica con rapporti mirati in donne di età inferiore ai 37 anni con infertilità inspiegata e MSM di diametro ≤ 40 mm con o senza MIM associati (35). Nessun effetto sui tassi di aborto e di gravidanza clinica è stata osservata tra le due strategie, sebbene lo studio includeva un piccolo campione di donne e un alto rischio di bias tale da precludere ogni conclusione definitiva a riguardo (34). L'assenza di robusti dati scientifici sull'efficacia dell'approccio isteroscopico nella paziente infertile e/o desiderosa di prole non selezionata e/o con patologia endocavitaria è stata anche confermata recentemente da una review sistematica della letteratura (36).

La scelta di impiegare o non impiegare una terapia farmacologica preliminare per la preparazione dell'endometrio e della cavità uterina deve essere personalizzata e sarebbe indicata per minimizzare le complicanze. Gli eventi avversi in corso di miomectomia isteroscopica sono rari ma possibili e consistono essenzialmente (33) nella sindrome da intravasazione, perforazione uterina, lesioni intestinali, vescicali e vascolari, metrorragie intra- e post-operatorie, embolia gassosa, sepsi e sinechie uterine. Per la trattazione di tali complicanze si rimanda a testi specialistici.

MIM

Terapia chirurgica

A tutt'oggi non esiste evidenza che la miomectomia migliori l'*outcome* riproduttivo della donna infertile (livello di evidenza 2) e, quindi, la sua efficacia rimane una questione controversa (33).

La scelta di eseguire o non eseguire la miomectomia deve essere personalizzata e deve essere condivisa dalla donna (37,38). Le variabili da cui dipende la scelta sono numerose: durata dell'infertilità involontaria, età della donna, numero dei MIM e loro dimensioni, rapporti tra i MIM e la cavità uterina, parametri del liquido seminale del partner, pregressa chirurgia pelvica, storia ostetrica e eventuali pregressi insuccessi delle tecniche di PMA.

In caso di un unico MIM di diametro non superiore a 5 cm la tecnica chirurgica di prima scelta è la miomectomia laparoscopica (37,38). In caso di un unico MIM di diametro superiore a 5 cm o di MIM multipli la miomectomia può

essere eseguita sia per via laparoscopica sia laparotomica (37,38). Una importante alternativa è la miomectomia minilaparotomica che ha mostrato stessi vantaggi riproduttivi della laparoscopia soprattutto in donne con infertilità inspiegata (39). Dati derivanti da *trial* randomizzati controllati (*randomized controlled trial*, RCTs) (37,38) mostrano che l'approccio laparoscopico sia più efficace in termini di preservazione della fertilità che non quale trattamento diretto per l'infertilità stessa. Infatti, un eccesso di efficacia della laparoscopia è evidente in donne con funzione riproduttiva integra che vogliono completare il loro progetto riproduttivo mentre sembrerebbe non avere nessun vantaggio aggiuntivo nella paziente con infertilità inspiegata (37-39).

Nella stessa seduta operatoria e prima di iniziare la miomectomia è sempre necessario eseguire un'isteroscopia al fine di valutare il rischio di apertura della cavità uterina. In tal caso, 2-3 mesi dopo la miomectomia andrebbe ripetuto un esame isteroscopico per valutare gli esiti endocavitari.

Le complicanze più importanti della miomectomia laparoscopica e laparotomica sono (40) l'emorragia intraoperatoria e postoperatoria con necessità di emotrasfusioni e/o reintervento e/o raramente di isterectomia, la formazione di aderenze addomino-pelviche e il potenziale aumentato rischio di rottura d'utero in gravidanza (41,42).

La rottura uterina è una rara complicanza della miomectomia che si verifica nello 0.2% and 0.26% delle miomectomie effettuate per via laparotomica e laparoscopica, rispettivamente (44-46). Come già accennato precedentemente, review sistematiche con meta-analisi aventi come oggetto il confronto tra i differenti approcci chirurgici ai miomi uterini sono caratterizzate da una estrema paucità di dati ostetrici e perinatali post-miomectomia (20,39,47). Uno studio retrospettivo osservazionale ha confrontato gli *outcomes* dopo miomectomia laparoscopica con quelli dopo miomectomia laparotomica e non ha rilevato differenze nel tasso di tagli cesarei di emergenza, parti pretermine, anomalie placentali, rischio di ipertensione arteriosa indotta dalla gravidanza (*pregnancy-induced hypertension*, PIH), basso punteggio di Apgar, alterazioni cardiocografiche e mortalità intrauterina fetale (48).

Due punti di discussione sono il *timing* della ricerca della gravidanza e la modalità del parto dopo miomectomia laparotomica o laparoscopica. E' comune ritenere che la gravidanza vada ricercata non prima che siano trascorsi 6 mesi dall'intervento al fine di ottenere una "buona cicatrice uterina" (43). In realtà, tale atteggiamento è arbitrario sia perché i tempi di cicatrizzazione sono molto più precoci (circa 40 giorni dall'insulto tissutale) sia perché non è supportato da nessun tipo di studio clinico e/o sperimentale. E' evidente, quindi, che non è una questione di tempo ma di qualità di sutura miometriale. Nella pratica clinica degli Autori, in caso di miomectomia di un MIM unico e di diametro non superiore a 5-6 cm, il parto per via vaginale non viene assolutamente sconsigliato, mentre in caso di miomectomia di un unico MIM con diametro maggiore di 5 cm o di miomectomia multipla viene indicato l'espletamento del parto tramite taglio cesareo. A tal proposito, gli Autori riportano nella cartella clinica e nella lettera di dimissione dopo chirurgia per mioma/i uterino/i sempre la modalità di parto da loro consigliata.

Negli ultimi anni sono state proposte nuove tecniche chirurgiche per eseguire una miomectomia, quali la chirurgia robotica (49) e la chirurgia *gasless* (50). I risultati sono promettenti ma queste tecniche devono essere considerate ancora sperimentali.

Terapia medica

L'impiego degli agonisti dell'ormone rilasciante le gonadotropine (*gonadotropin releasing hormone-agonists*, GnRH-a) per 2-3 mesi è previsto come terapia di preparazione all'intervento di miomectomia (livello di evidenza 1). I vantaggi dell'impiego degli GnRH-a consistono nella riduzione del volume del/dei MIM, riduzione delle perdite ematiche mestruali e conseguente miglioramento dei parametri dell'emocromo, riduzione del sanguinamento intraoperatorio (51). Un possibile svantaggio dell'impiego degli GnRH-a può essere una maggiore difficoltà a trovare il piano di clivaggio durante la miomectomia (51,52).

Terapie sperimentali

Numerose terapie sono state proposte per il trattamento dei miomi, sia chirurgiche sia mediche, sebbene debbano essere ancora considerate sperimentali e non praticabili nella paziente infertile e/o desiderosa di prole poiché i dati sono confinati a *case-series* o studi non controllati (52).

I trattamenti chirurgici includono l'embolizzazione dell'arteria/e uterina/e, la legatura laparoscopica permanente dell'arteria uterina, la chirurgia ad ultrasuoni sotto guida della RMN, la miolisi laparoscopica con corrente monopolare/bipolare o con freddo o con laser e l'ablazione termica con radiofrequenza laparoscopica o isteroscopica, mentre le terapie mediche proposte includono l'impiego di mifepristone, asoprisnil, ulipristal acetato, il proellex, gli inibitori delle aromatasi, l'epigallocatechina, il pirfenidone (52,53)

Conclusioni

La diagnosi di miomi uterini è frequente e, ancor di più, nella donna infertile.

I MSM e/o i MIM con impatto cavitario sono quelli maggiormente implicati in una riduzione delle *chance* riproduttive nella donna infertile e andrebbero trattati chirurgicamente. La chirurgia, infatti, al momento resta l'unica opzione terapeutica per il trattamento di miomi nella donna infertile o desiderosa di prole. L'isteroscopia, oggi, non è solo l'indagine *gold standard* nella diagnosi dei miomi ma anche l'unica e imprescindibile tecnica chirurgica per il

trattamento dei MSM. La decisione, tuttavia, di eseguire o meno la miomectomia e di come eseguirla deve essere attentamente personalizzata sulla base delle evidenze scientifiche disponibili.

Bibliografia

- 1) Lethaby AE, Vollenhoven BJ. Fibroids (uterine myomatosis, leiomyomas). Clin Evid (Online) 2009;5:814-38.
- 2) Marsh EE, Ekpo GE, Cardozo ER, Brocks M, Dune T, Cohen LS. Racial differences in fibroid prevalence and ultrasound findings in asymptomatic young women (18-30 years old): a pilot study. Fertil Steril 2013;99:1951-7.
- 3) Wise LA, Palmer JR, Harlow BL, Spiegelman D, Stewart EA, Adams-Campbell LL, Rosenberg L. Reproductive factors, hormonal contraception, and risk of uterine leiomyomata in African-American women: a prospective study. Am J Epidemiol 2004;159:113-23.
- 4) Huyck KL, Panhuysen CI, Cuenco KT, Zhang J, Goldhammer H, Jones ES, Somasundaram P, Lynch AM, Harlow BL, Lee H, Stewart EA, Morton CC. The impact of race as a risk factor for symptom severity and age at diagnosis of uterine leiomyomata among affected sisters. Am J Obstet Gynecol 2008;198:168-9.
- 5) Jacoby VL, Fujimoto VY, Giudice LC, Kuppermann M, Washington AE. Racial and ethnic disparities in benign gynecologic conditions and associated surgeries. Am J Obstet Gynecol 2010;202:514-21.
- 6) Klatsky PC, Tran ND, Caughey AB, Fujimoto VY. Fibroids and reproductive outcomes: a systematic review from conception to delivery. Am J Obstet Gynecol 2008;198:357-66.
- 7) Buttram VC Jr, Reiter RC. Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology, and management. Fertil Steril 1981;36:433-45.
- 8) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine in collaboration with The Society of Reproductive Surgeons. Myomas and reproductive function. Fertil Steril 2008;90:S125-30.
- 9) Wamsteker K, De Kruif J. Transcervical hysteroscopic resection of SM fibroids for abnormal uterine bleeding: results regarding the degree of IM extension. Obstet Gynecol 1993;82:736-40.
- 10) Faye JA, Mutie G, Schneider PJ. The diagnostic value of hysterosalpingography and hysteroscopy in infertility investigation. Am J Obstet Gynecol 1987;156:558-60.
- 11) Goldberg J, Falcone T, Attaran M. Sonohysteroscopic evaluation of uterine defects noted on hysterosalpingography. Hum Reprod 1997;12:2115-117.
- 12) La Sala GB, Blasi I, Gallinelli A, Debbi C, Lopopolo G, Vinci V, Villani MT, Iannotti F. Diagnostic accuracy of sonohysterography and transvaginal sonography as compared with hysteroscopy and endometrial biopsy: a prospective study. Minerva Ginecol 2011;63:421-7.
- 13) Cohen LS, Valle RF. Role of vaginal sonography and hysterosonography in the endoscopic treatment of uterine myomas. Fertil Steril 2000;73:197-204.
- 14) Metwally M, Farquhar CM, Li TC. Is another metaanalysis on the effects of intramural fibroids on reproductive outcomes needed? Reprod Biomed Online 2011;23:2-14.
- 15) Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. Fertil Steril 2009;91:1215-23.
- 16) Somigliana E, Vercellini P, Dagupati R, Pasin R, De Giorgi O, Crosignani PG. Fibroids and female reproduction:

a critical analysis of the evidence. *Hum Reprod Update* 2007;13:465–76.

- 17) Sunkara SK, Khairy M, El-Toukhy T, Khalaf Y, Coomarasamy A. The effect of intramural fibroids without uterine cavity involvement on the outcome of IVF treatment: a systematic review and metaanalysis, *Hum Reprod* 2010;25:418–29.
- 18) American Association of Gynecologic Laparoscopists (AAGL). Advancing Minimally Invasive Gynecology Worldwide: AAGL practice report: practice guidelines for the diagnosis and management of submucous leiomyomas. *J Minim Invasive Gynecol* 2012;19:152–71.
- 19) Rackow BW, Taylor, HS. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2010;93:2027–34.
- 20) Palomba S, Santagni S, Gibbins K, La Sala GB, Silver RM. Pregnancy complications in spontaneous and assisted conceptions of women with infertility and subfertility factors. A comprehensive review. *Reprod Biomed Online* 2016;33:612–28.
- 21) Lam SJ, Best S, Kumar S. The impact of fibroid characteristics on pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2014;211:395.e1–5.
- 22) Stout MJ, Odibo AO, Graseck AS, Macones GA, Crane JP, Cahill AG. Leiomyomas at routine second-trimester ultrasound examination and adverse obstetric outcomes. *Obstet Gynecol* 2010;116:1056–63.
- 23) Michels KA, Velez Edwards DR, Baird DD, Savitz DA, Hartmann KE. Uterine leiomyomata and cesarean birth risk: a prospective cohort with standardized imaging. *Ann Epidemiol* 2014;24:122–6.
- 24) Shavell VI, Thakur M, Sawant A, Kruger ML, Jones TB, Singh M, Puschek EE, Diamond MP. Adverse obstetric outcomes associated with sonographically identified large uterine fibroids. *Fertil Steril* 2012;97:107–10.
- 25) Lai J, Caughey AB, Qidwai GI, Jacoby AF. Neonatal outcomes in women with sonographically identified uterine leiomyomata. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25:710–3.
- 26) Ciavattini A, Clemente N, Delli Carpini G, Di Giuseppe J, Giannubilo SR, Tranquilli AL. Number and size of uterine fibroids and obstetric outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015;28:484–8.
- 27) Coronado GD, Marshall LM, Schwartz SM. Complications in pregnancy, labor, and delivery with uterine leiomyomas: a population-based study. *Obstet Gynecol* 2000;95:764–9.
- 28) Sheiner E, Bashiri A, Levy A, HersHKovitz R, Katz M, Mazor M. Obstetric characteristics and perinatal outcome of pregnancies with uterine leiomyomas. *J Reprod Med* 2004;49:182–6.
- 29) Palomba S, Homburg R, Santagni S, La Sala GB, Orvieto R. Risk of adverse pregnancy and perinatal outcomes after high technology infertility treatment: a comprehensive systematic review. *Reprod Biol Endocrinol* 2016;14:76.
- 30) Metwally M, Cheong YC, Horne AW. Surgical treatment of fibroids for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;11:CD003857.
- 31) Bosteels J, Kasius J, Weyers S, Broekmans FJ, Mol BW, D'Hooghe TM. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;31:CD009461.
- 32) Yang JH, Chen MJ, Chen CD, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Optimal waiting period for subsequent fertility treatment after various hysteroscopic surgeries. *Fertil Steril* 2013;99:2092–6.
- 33) Kroon B, Johnson N, Chapman M, Yazdani A, Hart R; Australasian CREI Consensus Expert Panel on Trial evidence (ACCEPT) group. Fibroids in infertility—consensus statement from ACCEPT (Australasian CREI Consensus

Expert Panel on Trial evidence). Aust N Z J Obstet Gynaecol 2011;51:289-95.

- 34) Bosteels J, Kasius J, Weyers S, Broekmans FJ, Mol BW, D'Hooghe TM. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. Cochrane Database Syst Rev 2015;21:CD009461.
- 35) Casini ML, Rossi F, Agostini R, Unfer V. Effects of the position of fibroids on fertility. Gynecol. Endocrinol 2006;22:106–9.
- 36) Di Spiezio Sardo A, Di Carlo C, Minozzi S, Spinelli M, Pistotti V, Alviggi C, De Placido G, Nappi C, Bifulco G. Efficacy of hysteroscopy in improving reproductive outcomes of infertile couples: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2016;22:479-96.
- 37) Palomba S, Zupi E, Falbo A, Russo T, Marconi D, Tolino A, Manguso F, Mattei A, Zullo F. A multicenter randomized, controlled study comparing laparoscopic versus minilaparotomic myomectomy: reproductive outcomes, Fertil Steril 2007;88:933-41.
- 38) Palomba S, Zupi E, Russo T, Falbo A, Marconi D, Tolino A, Manguso F, Mattei A, Zullo F. A multicenter randomized, controlled study comparing laparoscopic versus minilaparotomic myomectomy: short-term outcomes. Fertil Steril 2007;88:942-51.
- 39) Palomba S, Fornaciari E, Falbo A, La Sala GB. Safety and efficacy of the minilaparotomy for myomectomy: a systematic review and meta-analysis of randomized and non-randomized controlled trials. Reprod Biomed Online 2015;30:462-81.
- 40) Jin C, Hu Y, Chen XC, Zheng FY, Lin F, Zhou K, Chen FD, Gu HZ. Laparoscopic versus open myomectomy – a meta-analysis of randomized controlled trials. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2009;145:14–21.
- 41) Dubuisson JB1, Chavet X, Chapron C, Gregorakis SS, Morice P. Uterine rupture during pregnancy after laparoscopic myomectomy. Hum Reprod 1995;10:1475–7.
- 42) Harris WJ. Uterine dehiscence following laparoscopic myomectomy, Obstet Gynecol 1992;80:545–6.
- 43) Duhan N. Current and emerging treatments for uterine myoma - an update. Int J Womens Health 2011;3:231-41.
- 44) Parker WH, Einarsson J, Istre O, Dubuisson J-B. Risk factors for uterine rupture after laparoscopic myomectomy. J Minim Invasive Gynecol 2010;17:551–4.
- 45) Sizzi O, Rossetti A, Malzoni M, Minelli L, La Grotta F, Soranna L, Panunzi S, Spagnolo R, Imperato F, Landi S. Italian multicenter study on complications of laparoscopic myomectomy. J Minim Invasive Gynecol 2007;14:453–62.
- 46) Zhang Y, Hua KQ. Patients' age, myoma size, myoma location, and interval between myomectomy and pregnancy may influence the pregnancy rate and live birth rate after myomectomy. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2014;24:95–9.
- 47) Pundir J, Pundir V, Walavalkar R, Omanwa K, Lancaster G, Kayani S. Robotic-assisted laparoscopic vs abdominal and laparoscopic myomectomy: systematic review and meta-analysis. J Minim Invasive Gynecol 2013;20:335–45.
- 48) Fukuda M, Tanaka T, Kamada M, Hayashi A, Yamashita Y, Terai Y, Ohmichi M. Comparison of the perinatal outcomes after laparoscopic myomectomy versus abdominal myomectomy. Gynecol Obstet Invest 2013;76:203-8.

- 49) Pitter MC, Gargiulo AR, Bonaventura LM, Lehman JS, Srouji SS. Pregnancy outcomes following robot-assisted myomectomy. *Hum Reprod* 2013;28:99-108.
- 50) Palomba S, Zupi E, Falbo A. New tool (Laparotenser) for gasless laparoscopic myomectomy: a multicenter-controlled study. *Fertil Steril* 2010;94:1090-6.
- 51) Lethaby A, Vollenhoven B, Sowter MC. Pre-operative GnRH analogue therapy before hysterectomy or myomectomy for uterine fibroids. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;2:CD000547.
- 52) Donnez J, Dolmans MM. Uterine fibroid management: from the present to the future. *Hum Reprod Update* 2016;22:665-86.
- 53) Islam MS, Protic O, Giannubilo SR, Toti P, Tranquilli AL, Petraglia F, Castellucci M, Ciarmela P. Uterine leiomyoma: available medical treatments and new possible therapeutic options. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:921-34.

I test genetici nella coppia infertile

Liborio Stuppia, Antonio Novelli

Le condizioni geneticamente determinate che si associano ad infertilità o sterilità maschile e femminile sono numerosissime. Tuttavia, nella pratica clinica, le alterazioni genetiche da valutare nell'ambito del percorso diagnostico di una coppia infertile sono quelle che rispondono a due requisiti essenziali:

- 1) le conseguenze fenotipiche dell'anomalia genetica devono interessare esclusivamente o prevalentemente la capacità riproduttiva dell'individuo o della coppia e l'infertilità deve pertanto rappresentare l'unico o il principale segno clinico;
- 2) la prevalenza della specifica anomalia genetica da ricercare deve essere sufficientemente rappresentata tra le coppie infertili perché sia giustificato il ricorso al test (ottimizzazione del rapporto costo/beneficio).

I test genetici indicati alle coppie con problemi di fertilità, hanno quindi il fine di evidenziare la presenza di eventuali anomalie cromosomiche o monogeniche responsabili della condizione in esame. Questi test hanno il duplice scopo di:

- 1) identificare l'eziologia della patologia ed evitare, di conseguenza, terapie aspecifiche di poca o nulla utilità;
- 2) rivelare la presenza di mutazioni geniche causative dell'infertilità, ma che potrebbero anche determinare, qualora trasmesse mediante tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), ad aborti ricorrenti o a patologie genetiche nella prole (Foresta et al., 2002; Novelli and Stuppia, 2016).

L'appropriatezza del test genetico è quindi strettamente correlata alla causa dell'infertilità e possono perciò essere indicate analisi genetiche diverse rispetto all'origine maschile o femminile del problema.

Test genetici indicati nei casi di infertilità maschile

Prima di sottoporre un uomo infertile un test genetico, è indispensabile raccogliere accurate informazioni sulla sua storia clinica (ad es. eventuale presenza di varicocele, criptorchidismo,

malattie infettive, abuso di farmaci, ecc.) e sulla sua possibile esposizione a fattori ambientali dannosi per la spermatogenesi, allo scopo di evitare inutili indagini qualora si evidenzino un chiaro fattore ambientale alla base dell'infertilità.

Qualora la storia clinica del soggetto sia suggestiva per una base genetica della sua condizione, per una corretta scelta del test genetico da proporre è indispensabile inquadrare la condizione in base ai valori della conta spermatica e dei livelli di FSH, LH e Testosterone, distinguere tra forme di infertilità pre-testicolari, testicolari (le più frequenti) o post-testicolari, in quanto ad ognuna di queste forme possono essere associate cause genetiche diverse.

In un quadro di azoospermia non ostruttiva o di oligozoospermia grave ($<5.000.000/\text{ml}$) e con elevati valori di FSH e LH, il primo test da svolgere è ***l'analisi del cariotipo***, che è in grado, come unico test effettuato, di mettere in evidenza la maggior parte delle alterazioni genetiche responsabili di infertilità su base testicolare. E' stato infatti ampiamente dimostrato che la prevalenza delle anomalie cromosomiche riscontrabili nei pazienti maschi infertili è di 8-10 volte maggiore rispetto a quella dei soggetti maschi fertili (Chandey AC, 1998; Clementini et al., 2005; McLachlan and O'Bryan, 2010).

L'analisi del cariotipo in questi soggetti può evidenziare diversi tipi di alterazioni cromosomiche:

- 1) **Cariotipo 47, XXY**. Rappresenta l'anomalia cromosomica più frequente nei soggetti di sesso maschile della specie umana (incidenza di 1:500 – 1:1000 nati) e si associa all'insorgenza della condizione anche nota come Sindrome di Klinefelter (Aksglaede et al., 2013). In alcuni casi può presentarsi sotto forma di mosaico, ossia con la contemporanea presenza di cellule a cariotipo normale (46,XY) e cellule a cariotipo trisomico (47,XXY). In quest'ultimo caso, è possibile che il paziente abbia una gametogenesi residua e possa essere pertanto avviata una PMA, tenendo conto che esiste la possibilità che i gameti presenti siano anch'essi portatori di un cromosoma sessuale sovrannumerario e dare quindi origine ad un embrione 47,XXY o 47,XXX. La presenza di un cariotipo 47,XXY è responsabile di circa il 25% dei casi di azoospermia non ostruttiva e va quindi sempre ricercata, indipendentemente dalle caratteristiche fenotipiche del soggetto, tra le quali, va ricordato, l'unica costante è l'alta statura (dovuta alla presenza di 3 copie del gene *SHOX*, situato nella regione pseudoautosomica 1 dei cromosomi X e Y), mentre la presenza di altri segni quali l'ambiguità dei caratteri sessuali secondari (riduzione della peluria, distribuzione del tessuto adiposo e struttura del bacino di ginoide, ginecomastia) è molto variabile.

L'identificazione del cariotipo 47,XXY è semplice e non necessita di alcun esame aggiuntivo, se non la accortezza di estendere il numero delle cellule analizzate a 100 metafasi per valutare la possibile presenza di mosaici. Nel caso in cui non sia possibile effettuare un prelievo di sangue venoso per la coltura dei linfociti da sottoporre ad analisi citogenetica, è possibile identificare la presenza del cromosoma X sovrannumerario attraverso test molecolari quali la QF-PCR (per la cui esecuzione nei numerosi tipi di kit disponibili in commercio che comprendono sonde specifiche per i cromosomi sessuali).

- 2) **Cariotipo 46,XX.** La presenza di un cariotipo femminile in soggetti fenotipicamente maschili è un evento raro che (circa 1/20.000 nati), ma è tuttavia da considerare rappresentando il 2% dei casi di azoospermia (de La Chapelle et al., 1975). Nel 90% dei casi questa condizione è causata da un crossing-over anomalo tra le regioni pseudoautosomiche 1 (PAR1) dei cromosomi X e Y durante la gametogenesi del padre del soggetto in esame (Song et al., 2016). In seguito a questo evento, il gene *SRY*, che si trova molto vicino alla regione PAR1, viene traslocato dal cromosoma Y al cromosoma X. Ultimata la meiosi, i gameti presenteranno nel loro corredo aploide il cromosoma X su cui sarà quindi presente il gene *SRY*, capace di indurre, dopo la fecondazione, il differenziamento sessuale del feto in senso maschile. L'assenza dei geni del braccio lungo del cromosoma Y, però, impedirà lo svolgimento del processo di sterile determinando la sterilità.

Il rimanente 10% dei casi, *SRY*-negativi, è verosimilmente dovuto a mutazioni in altri geni correlati al differenziamento sessuale in senso maschile (Rajender et al., 2006). La conferma diagnostica del riscontro citogenetico di maschio XX *SRY*+ può essere ottenute con una PCR specifica per il gene *SRY*, oppure mediante analisi FISH con una sonda specifica per lo stesso gene, che ne dimostrerà la localizzazione su uno dei due cromosomi X. Nelle forme *SRY*-negative, al momento non appare opportuno inserire la ricerca della mutazione responsabile nel percorso diagnostico del maschio infertile, considerata la numerosità dei geni da analizzare e la bassa prevalenza di ogni specifica mutazione. Tuttavia, gli approcci di Next Generation Sequencing (NGS), che permettono l'analisi in parallelo di molti geni diversi, permetteranno verosimilmente di inserire, in futuro, nella pratica clinica anche questo tipo di analisi.

- 3) **Alterazioni strutturali del cromosoma Y.** Possono essere riscontrati diversi tipi di anomalie strutturali del cromosoma Y, quali delezioni del braccio lungo, isocromosomi

per il braccio corto, cromosomi Y ad anello e traslocazioni. In tutti i casi, se il riarrangiamento coinvolge il braccio lungo del cromosoma Y, verranno persi i geni dei loci AZF, contenenti i geni implicati nella spermatogenesi, con conseguente sterilità. Il cromosoma Y riarrangiato tende ad essere instabile durante la mitosi e, pertanto, i soggetti portatori dell'alterazione presentano, in genere, una condizione di mosaico con presenza di una linea cellulare 45,X. Il fenotipo del paziente potrà essere condizionato dalla prevalenza di tale linea cellulare (Stuppia et al., 1996).

I riarrangiamenti del cromosoma Y sono facilmente evidenziabili attraverso l'esame citogenetico, anche attraverso l'uso di specifiche tecniche capaci di evidenziare la eterocromatina del braccio lungo del cromosoma Y (bandeggio Q, bandeggio C, digestione enzimatica con la endonucleasi AluI). Il riscontro citogenetico in questi casi può essere perfezionato attraverso l'uso della FISH con sonde specifiche per il braccio lungo del cromosoma Y, che ne dimostrino il coinvolgimento nella alterazione strutturale.

- 4) **Traslocazioni reciproche e robertsoniane.** Le traslocazioni cromosomiche reciproche e robertsoniane sono un reperto abbastanza frequente nella popolazione generale. Le prime, infatti, sono presenti in circa un individuo su 600 nella popolazione generale, e le seconde in un individuo su 1.300 circa.

Le traslocazioni reciproche si manifestano quando avviene uno scambio di materiale genetico tra due cromosomi non omologhi. Nel corso della meiosi, la presenza su un cromosoma di materiale genetico appartenente a un altro cromosoma può portare a particolari appaiamenti che coinvolgono non due ma quattro cromosomi (ovvero i due coinvolti nella traslocazione ed i loro omologhi normali). Come conseguenza, la derivante segregazione porterà alla presenza di sbilanciamenti cromosomici in circa il 50% dei gameti. Secondo i dati ottenuti dalla diagnosi citogenetica prenatale, gli sbilanciamenti cromosomici di origine paterna sono presenti con una frequenza di circa il 12% (Bouè and Gallano, 1984). Il più delle volte la trasmissione di un riarrangiamento sbilanciato non è compatibile con la vita ed anche con lo sviluppo intrauterino, tuttavia, in alcuni casi lo sbilanciamento non è incompatibile con la vita e può quindi portare alla nascita di bambini con gravi disabilità fisiche e/o mentali.

Riguardo alle traslocazioni robertsoniane, le più comuni sono quelle che coinvolgono i cromosomi 13;14 o 14;21. Il nesso tra le traslocazioni robertsoniane e l'infertilità è stato spesso spiegato con la possibilità che l'anomalia cromosomica interferisca con l'appaiamento cromosomico in meiosi, bloccando lo sviluppo delle cellule germinali e

provocando in questo modo azoospermia. Tuttavia, queste traslocazioni sono riscontrate con maggiore frequenza in soggetti con oligozoospermia (1.5%) che in quelli con azoospermia (0.2%) (McLachlan and O'Bryan, 2010). In questi casi, una quota variabile dal 4 al 40% degli spermatozoi presenta uno sbilanciamento dell'anomalia, con un aumento del rischio di patologie cromosomiche numeriche nella prole quali trisomia 21, trisomia 13 o di disomia uniparentale dei cromosomi 14 e 15 e quindi di sindromi quali quella di Prader Willi (Ogur et al., 2006; Martin RH, 2008; McLachlan and O'Bryan, 2010).

Qualora un paziente con infertilità su base testicolare presenti un cariotipo normale, è possibile proseguire l'analisi genetica valutando la presenza delle **microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y (Yq)**. Tale regione cromosomica, infatti, contiene diversi geni implicati nella spermatogenesi, localizzati in tre grandi regioni (AZFa, AZFb e AZFc,) (Vogt et al., 1996). La regione AZFa contiene due geni principali (*USP9Y* e *DBY*) (Foresta et al., 2000), mentre AZFb contiene diversi geni candidati, tra cui *RBMY* e *PRY* (Ferlin et al., 2003). Infine, la regione AZFc contiene 8 famiglie geniche, tra cui la più nota è quella di *DAZ*, presente in 4 copie (Lahn and Page, 1997; Saxena et al., 2000). Così come le delezioni citogeneticamente evidenziabili della regione Yq causano sterilità, le microdelezioni (non evidenziabili mediante analisi cromosomica, ma solo attraverso un test molecolare) si associano a diversi difetti della spermatogenesi che si manifestano con un quadro di azoospermia o oligozoospermia grave. I soggetti che presentano questo tipo di alterazione rappresentano circa il 10% dei casi d'infertilità maschile, con una prevalenza stimata di 1/2500 (Ferlin et al., 2007). In considerazione della loro frequenza, inferiore a quella delle anomalie del cariotipo, le microdelezioni del cromosoma Y vanno ricercate solo successivamente alla analisi cromosomica e solo in pazienti con azoospermia o oligozoospermia severa grave (<5.000.000 spermatozoi/ml) (Foresta et al., 2002). E' pertanto errato indicare al paziente la ricerca delle microdelezioni del cromosoma Y prima di conoscere il risultato dell'analisi del cariotipo e richiedere tale analisi in pazienti con difetti lievi della spermatogenesi o addirittura con quadro seminale normale. L'analisi delle microdelezioni del cromosoma Y in soggetti non selezionati porta infatti ad una riduzione della detection rate del test dal 10% al 2% circa, con un ingiustificato peggioramento del rapporto costo/beneficio (Ferlin et al., 2007). Attualmente esistono in commercio diversi kit che permettono la rapida diagnosi delle microdelezioni mediante l'amplificazione simultanea (multiplex PCR) di diversi Sequence-Tagged Sites (STS), la loro elettroforesi capillare e la detection mediante primer fluorescenti.

Questi kit prevedono di solito l'amplificazione di 8-9 marcatori, le cui coppie di primer sono combinate in un'unica mix di reazione, che coprono tutti e tre i loci AZF e sono generalmente quelli raccomandati dell'European Academy of Andrology (EAA) e dall'European Quality Monitoring Network Group (EMQN) (Krausz et al., 2014). Vi è inoltre la presenza di marcatori usati come controllo interno dell'amplificazione in PCR, in quanto presenti sia sul cromosoma Y che sul cromosoma X.

Sebbene in passato alcuni lavori abbiano suggerito un aumento del rischio di infertilità in pazienti portatori di delezioni parziali del locus AZFc, con perdita di alcune copie di DAZ, la ricerca nella pratica clinica di questo tipo di alterazione non appare al momento giustificato.

Qualora i dati clinici e ormonali di un soggetto maschio infertile suggeriscano una causa post-testicolare del problema (azoospermia ostruttiva), e quando un esame ecografico abbia documentato la presenza di agenesia dei dotti deferenti bilaterale (Congenital Bilateral Absence of Vas Deferens, CBAVD) o unilaterale (CUAVD), è imperativo indicare l'esecuzione del test per la **ricerca di mutazioni del gene CFTR**, la cui mutazione in entrambe le copie determina l'insorgenza della Fibrosi Cistica (FC). L'agenesia dei dotti deferenti, infatti, rappresenta una particolare manifestazione nell'ambito dello spettro fenotipico della FC, caratterizzata dall'infertilità quale unico segno clinico (Anguiano et al., 1992). Il gene *CFTR* può presentare migliaia di diverse mutazioni, che possono essere classificate in mutazioni gravi (mutazioni CF) o mutazioni lievi (mutazioni CF^m). Esiste inoltre una variante genica dell'introne 8 del gene, definita allele 5T (ripetizione di 5 timine), che può essere presente in alcuni soggetti con agenesia dei dotti deferenti. La variante 5T risulterebbe predisponente alla CBAVD o alla CUAVD o ad una forma non classica di FC se adiacente al polimorfismo TG12 o al TG13 (ripetizione alternata delle basi Timina e Guanina 12 o 13 volte). Se il tratto TG è ripetuto 9, 10, 11 volte è invece meno probabile che la presenza del 5T determini conseguenze cliniche. Quindi, l'eventuale riscontro della variante 5T necessita di un approfondimento di analisi per la determinazione della lunghezza del tratto TG (Stuppia et al., 2005). In conclusione, le mutazioni CF in omozigosi o in doppia eterozigosi causano la forma conclamata di FC. Al contrario, le mutazioni CF^m o la presenza di 5T – TG12 o TG13, anche in doppia eterozigosi con una mutazione CF, provocano forme lievi o incomplete della patologia, tra cui, appunto, l'agenesia isolata dei vasi deferenti. I pazienti con tale condizione possono, pertanto, presentare diversi tipi di alterazioni del gene *CFTR*:

- eterozigosi composta CF/CF^m ;
- omozigosi CF^m/CF^m

- eterozigosi composta CF/5T - TG 12 o TG 13
- eterozigosi composta CF^m/5T - TG 12 o TG 13
- omozigosi 5T - TG 12 o TG 13/5T - TG 12 o TG 13

Fino ad oggi, data la complessità dello studio di tutte le mutazioni del gene *CFTR*, l'analisi di questo gene si è basata su approcci di reverse-dot blot o QF-PCR in grado di evidenziare le mutazioni più frequenti con un approccio semplice e rapido. Tali sistemi sono in grado di evidenziare circa l'80% delle mutazioni, e sono quindi molto utili nei casi di sospetta FC (seguite se necessario da test di II e III livello) e nelle analisi di screening del portatore. Tuttavia, il pannello di mutazioni presenti nei kit utilizzati privilegia le mutazioni CF rispetto alle CF^m, sebbene l'allele 5T sia pressoché sempre rappresentato. Per tale motivo, è frequente la possibilità che un soggetto con CBAVD dopo il test presenti una sola mutazione con la possibilità che si tratti di un portatore sano o che sia invece presente un'eterozigosi composta per una seconda mutazione non evidenziata dal kit utilizzato. Tale dubbio andrebbe risolto sia per garantire una diagnosi certa che per poter calcolare più correttamente possibile il rischio di generare un figlio affetto da FC o da FC lieve a seguito di PMA, qualora anche la partner del paziente sia una portatrice sana di FC (eventualità non remota, essendo i portatori sani nella popolazione generale 1 su 25). La risoluzione di questo problema non è semplice. E' stata già dimostrata l'utilità dell'applicazione, dopo il test di I livello, di altre tecniche di analisi, quali lo studio di mutazioni frequenti in specifiche aree geografiche, la ricerca di delezioni del gene *CFTR* mediante MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification) e lo screening di mutazioni dell'intero gene mediante DHPLC (Giuliani et al. 2010). L'uso di queste tre metodiche permette di aumentare la detection rate della seconda mutazione fino al 60%. In tempi recenti, tuttavia, la applicazione delle tecniche di NGS ha rivoluzionato il campo delle analisi genetiche, permettendo il sequenziamento di interi geni per un numero elevato di soggetti in tempi brevi e con costi relativamente contenuti. Pertanto, in considerazione della disponibilità di diversi pannelli per lo studio del gene *CFTR* mediante NGS e della riduzione dei costi di tale analisi, è attualmente suggeribile che tale approccio rappresenti il "gold standard" per la ricerca delle mutazioni del gene *CFTR* nei pazienti con CBAVD, in particolare quando l'identificazione della natura della seconda mutazione (CF o CF^m) sia cruciale per un corretto accertamento del rischio di generare un figlio affetto da FC a seguito di PMA.

Di riscontro meno frequente nella pratica clinica sono le forme di infertilità su base pre-testicolare, che coinvolgono alterazioni nel corretto funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, e sono in genere caratterizzate da bassi livelli di FSH e LH.

Qualora sia presente nel paziente anche anosmia, è possibile sospettare la sindrome di Kallman, patologia genetica che può presentare sia una trasmissione X-linked recessiva che, più raramente, una trasmissione autosomica (Song et al., 2016). Il tipo di alterazione genetica più frequente nelle forme di ipogonadismo ipogonadotropo con anosmia è rappresentato dalle **delezioni del gene *KAL1***, localizzato sul cromosoma X (Song et al., 2016). Queste delezioni possono essere individuate mediante analisi MLPA.

Infine, va ricordata la possibile associazione tra **mutazioni del gene del Recettore degli Androgeni (*AR*)** e l'infertilità maschile. Sebbene nella maggior parte dei casi le mutazioni di *AR* determinino "sex-reversal" (Complete Androgen Insensitivity Syndrome, CAIS) o la presenza di genitali ambigui (Partial Androgen Insensitivity Syndrome, PAIS), in alcuni casi possono associarsi a un quadro di normale sviluppo dei genitali maschili in cui l'infertilità è l'unico segno clinico (O'Hara et al., 2015). In questi casi, è in genere presente un alto indice di sensibilità agli androgeni (ASI), ossia il rapporto tra LH e testosterone, e tale quadro ormonale suggerisce la ricerca di mutazioni del gene *AR*, che sono prevalentemente rappresentate da mutazioni missenso e possono essere identificate nel 2-3% dei pazienti con azoospermia o oligozoospermia grave (Zuccarello et al., 2008; O'Hara et al., 2015).

Va anche ricordato come alcuni studi abbiano suggerito la presenza di una associazione tra il numero di ripetizioni delle triplette CAG e GGC del gene *AR* e l'infertilità maschile (Nenonen et al., 2011). Tuttavia, allo stato attuale, non ci sono indicazioni a favore dell'inserimento di questo test nel percorso diagnostico della coppia infertile (Krausz et al., 2015).

Test genetici indicati nei casi di infertilità femminile

Sebbene le cause di infertilità femminile siano numerose e spesso ben caratterizzate, l'inquadramento delle cause genetiche è sicuramente molto meno completo di quello possibile per le forme di infertilità maschile.

Una componente genetica rilevante può essere riscontrata nelle donne con Insufficienza Ovarica Precoce (Premature Ovarian Insufficiency, POI), una condizione con presenza di familiarità positiva nel 10-15% dei casi (Hart R, 2016). Circa il 13% dei casi di POI sono dovuti ad anomalie numeriche o strutturali del cromosoma X (Fortuno and Labarta, 2014). Tra queste, la più frequente è la **monosomia del cromosoma X**, che può essere correlata

all'insorgenza della Sindrome di Turner. Nella sua forma classica tale condizione determina disgenesi gonadica con amenorrea primaria e bassa statura ed in genere è quindi diagnosticata in un contesto diverso e più precoce di quello della infertilità di coppia. E' comunque importante sottolineare che in circa il 40% dei casi in mosaico 45,X/46,XX può presentarsi il ciclo mestruale e solo successivamente manifestarsi una POI (Fortuno and Labarta, 2014), giustificando quindi l'indicazione all'analisi del cariotipo in queste donne, arrivando ad una conta di almeno 30-50 metafasi proprio per verificare la presenza di eventuali mosaicismi. La monosomia X completa o in mosaico, tuttavia, non è l'unica alterazione cromosomica associata alla POI. E' possibile infatti che l'analisi del cariotipo riveli una delle seguenti condizioni:

- **isocromosoma del braccio lungo del cromosoma X**, con perdita dell'intero braccio corto e sintomatologia affine alla sindrome di Turner;
- **delezioni o traslocazioni del braccio lungo del cromosoma X**, in particolare le regioni Xq26-Xqter (POF1) e Xq13.3-Xq21.1 (POF2);
- **delezioni o traslocazioni del braccio corto del cromosoma X**, in particolare nella regione compresa tra Xp11.1 and Xp21.

Oltre alle suddette anomalie cromosomiche, la POI può essere associata anche a patologie monogeniche, e in particolare alla presenza di **premutazioni del gene *FMR1***. Questo gene, localizzato sul braccio lungo del cromosoma X, è caratterizzato dalla presenza di una espansione variabile delle triplette CGG nella sequenza del promotore. Quando il numero di tali triplette supera le 200 ripetizioni si verifica la metilazione del promotore che inattiva il gene causando la sindrome di Martin Bell o sindrome della X-fragile, che rappresenta la più frequente causa di ritardo mentale nei maschi dopo la sindrome di Down (circa 1/4000 nati). La presenza di un numero di triplette compreso tra 50 e 200, caratterizza, invece, il cosiddetto stato di "premutazione", una condizione in cui il gene è ancora attivo, ma più instabile. Le premutazioni di *FMR1* si associano a POI, essendo evidenziate in una percentuale di casi che varia dal 3% (forme sporadiche) al 15% (forme familiari) (Wittemberger et al., 2007; Hart 2016). Di contro, la prevalenza di POI tra le donne con premutazione di *FMR1* va dal 13 al 26% dei casi (Wittemberger et al., 2007). In considerazione di tali dati e del rischio di ulteriore espansione delle triplette CGG nel promotore di *FMR1* nella prole della paziente, con conseguente possibilità di nascita di un figlio affetto da Sindrome della X-fragile, è indicata l'analisi del gene *FMR1* nell'iter diagnostico delle donne con POI ed in particolare in casi in cui

i primi segni di alterata funzione ovarica siano associati ad elevati valori di FSH, caratteristica delle donne con premutazione di *FMR1* maggiori di 30 anni.

Il test per la ricerca delle premutazioni di *FMR1* può essere oggi condotto in modo rapido ed automatizzato mediante la metodica della TP-PCR, che permette in breve tempo di avere informazioni sulla espansione delle triplette CGG e sullo stato di metilazione del promotore di *FMR1* (Rzońca et al., 2016).

Anomalie genetiche possono essere riscontrate anche in altre forme di infertilità femminile, quali gli ipogonadismi ipogonadotropi, le endometriosi, la Sindrome dell'Ovaio Policistico. Tuttavia, nella maggior parte dei casi il numero dei possibili geni implicati e la bassa frequenza di mutazioni di ogni singolo gene non consentono l'inserimento dello studio di tali anomalie nella pratica clinica attuale. In altri casi, sono stati evidenziati dei geni di suscettibilità che quindi non vanno considerati nell'ambito di un percorso diagnostico. E' pertanto possibile valutare l'utilizzo di ulteriori test genetici solo nelle condizioni di **ipogonadismo ipogonadotropo**. In questi casi i due geni più comunemente coinvolti, sia nelle forme con anosmia (sindrome di Kallman) che in quelle senza anosmia, sono *FGFR1* e *CHD7*. Le cui mutazioni sono riscontrate nel 10% e 6% dei casi rispettivamente. L'analisi di questi due geni, pertanto, può essere suggerita, mentre l'analisi del gene *KAL1*, le cui mutazioni danno luogo alla forma X-linked recessiva, è indicata solo nei soggetti di sesso maschile. Nelle forme senza anosmia è possibile anche analizzare i geni *TACR3* e *GNRHR*, la cui analisi può portare la detection rate al 25%. Se esiste familiarità positiva, va ricordato che le mutazioni di *FGFR1* and *CHD7* si trasmettono in modo dominante, mentre quelle di *GNRHR* e *TACR3* in modo recessivo. Le delezioni o duplicazioni di tali geni possono essere analizzate mediante MLPA (Layman L, 2013).

In molti casi, nonostante l'esecuzione di un'accurata valutazione delle possibili cause di infertilità, non è possibile riscontrare problemi ascrivibili al partner maschio o a quello femminile. In questi casi, la tipologia di test genetico da svolgere può limitarsi alla sola analisi del cariotipo, alla luce della possibilità che uno dei due partner sia portatore di una anomalia cromosomica che possa non manifestarsi con difetti della gametogenesi, ma provocare interruzioni precoci della gravidanza e/o rischio di nascita di un bambino con disabilità.

Per concludere, le attuali indicazioni per la esecuzione di test genetici devono necessariamente tenere conto di un adeguato rapporto costo/beneficio e limitarsi pertanto

alla ricerca di anomalie genetiche che presentino una prevalenza nell'infertilità di coppia tale da giustificare il ricorso al test. E' probabile che in futuro, tramite le tecniche di NGS, sia possibile utilizzare pannelli che analizzino in parallelo più geni coinvolti nella patogenesi di diverse forme di infertilità, allo scopo di ridurre i costi ed i tempi delle analisi e di fornire dati più accurati sulla prevalenza delle alterazioni genetiche nelle coppie infertili.

Bibliografia

Anguiano A, Oates RD & Amos JA et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens. A primarily genital form of cystic fibrosis. JAMA 1992; 267: 1794–1797.

Aksglaede L, Link K, Giwercman A, Jørgensen N, Skakkebaek NE, Juul A. 47, XXY Klinefelter syndrome: clinical characteristics and age-specific recommendations for medical management. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2013;163C:55–63

Boue' H, Gallano P. A collaborative study of the segregation of inherited chromosome structural rearrangements in 1356 prenatal diagnoses. Prenat Diagn 1984;4:45–67.

Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. Hum Reprod. 2005 Feb;20(2):437-42.

Chandley AC 1998 Genetic contribution to male infertility. Hum Reprod 13(Suppl 3):76–83.
- de la Chapelle A. Nature and origin of males with XX sex chromosomes. Am J Hum Genet 1972; 24: 71–105.

Ferlin A, Moro E, Rossi A, Dallapiccola B, Foresta C. The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. J Med Genet. 2003 Jan;40(1):18-24.

Ferlin A1, Arredi B, Speltra E, Cazzadore C, Selice R, Garolla A, Lenzi A, Foresta C. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. J Clin Endocrinol Metab. 2007 Mar;92(3):762-70.

Foresta C, Ferlin A, Moro E. Deletion and expression analysis of AZFa genes on the human Y chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum Mol Genet.* 2000 May 1;9(8):1161-9

Foresta C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur J Hum Genet.* 2002 May;10(5):303-12.

Fortuño C, Labarta E. Genetics of primary ovarian insufficiency: a review. *J Assist Reprod Genet.* 2014 Dec;31(12):1573-85.

Giuliani R, Antonucci I, Torrente I, Grammatico P, Palka G, Stuppia L. Identification of the second CFTR mutation in patients with congenital bilateral absence of vas deferens undergoing ART protocols. *Asian J Androl.* 2010 Nov;12(6):819-26.

Hart RJ. Physiological Aspects of Female Fertility: Role of the Environment, Modern Lifestyle, and Genetics. *Physiol Rev.* 2016 Jul;96(3):873-909

Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F; European Academy of Andrology.; European Molecular Genetics Quality Network.. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014 Jan;2(1):5-19.

Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. *Reproduction.* 2015 Nov;150(5):R159-74.

Lahn BT, Page DC. Functional coherence of the human Y chromosome. *Science.* 1997 Oct 24;278(5338):675-80.

Layman LC. The genetic basis of female reproductive disorders: etiology and clinical testing. *Mol Cell Endocrinol.* 2013 May 6;370(1-2):138-48.

Martin RH 2008 Cytogenetic determinants of male fertility. *Hum Reprod Update* 14:379–390

McLachlan RI, O'Bryan MK State of the art for genetic testing of infertile men. J Clin Endocrinol Metab. 2010; 95:1013-24

Nenonen HA, Giwercman A, Hallengren E, Giwercman YL. Non-linear association between androgen receptor CAG repeat length and risk of male subfertility--a meta-analysis. Int J Androl. 2011 Aug;34(4):327-32.

Novelli A, Stuppia L Test genetici nel percorso della procreazione medicalmente assistita (PMA). Tavolo di consenso "Il futuro della medicina della riproduzione. Approccio integrato ginecologico-andrologico della coppia infertile". Direttivo Società Italiana di Genetica Umana, 2016.

O'Hara L, Smith LB. Androgen receptor roles in spermatogenesis and infertility. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2015 Aug;29(4):595-605

Ogur G, Van Assche E, Vegetti W, Verheyen G, Tournaye H, Bonduelle M, Van Steirteghem A, Liebaers I 2006 Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers. Mol Hum Reprod 12:209–215

Rajender S, Rajani V, Gupta NJ, Chakravarty B, Singh L, et al. SRY-negative 46, XX male with normal genitals, complete masculinization and infertility. Mol Hum Reprod 2006; 12: 341–6.

Rzońca SO, Gos M, Szopa D, Sielska-Rotblum D, Landowska A, Szpecht-Potocka A, Milewski M, Czekańska J, Abramowicz A, Obersztyn E, Maciejko D, Mazurczak T, Bal J. Towards a Better Molecular Diagnosis of FMR1-Related Disorders-A Multiyear Experience from a Reference Lab. Genes (Basel). 2016 Sep 2;7(9).

Saxena R, de Vries JW, Repping S, Alagappan RK, Skaletsky H, Brown LG, Ma P, Chen E, Hoovers JM, Page DC. Four DAZ genes in two clusters found in the AZFc region of the human Y chromosome Genomics. 2000 Aug 1;67(3):256-67.

Song SH, Chiba K, Ramasamy R, Lamb DJ. Recent advances in the genetics of testicular failure. Asian J Androl. 2016 May-Jun;18(3):350-5.

Stuppia L, Calabrese G, Franchi PG, Mingarelli R, Morizio E, Sabatino G, Palka G. Molecular studies in three patients with isodicentric Y chromosome. *Hum Genet.* 1996 Dec;98(6):691-5.

Stuppia L, Antonucci I, Binni F, Brandi A, Grifone N, Colosimo A, De Santo M, Gatta V, Gelli G, Guida V, Majore S, Calabrese G, Palka C, Ravani A, Rinaldi R, Tiboni GM, Ballone E, Venturoli A, Ferlini A, Torrente I, Grammatico P, Calzolari E, Dallapiccola B. Screening of mutations in the CFTR gene in 1195 couples entering assisted reproduction technique programs. *Eur J Hum Genet.* 2005 Aug;13(8):959-64

Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Köhn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C, Hartmann M, Hartschuh W, Meschede D, Behre HM, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Gröne HJ, Jung A, Engel W, Haidl G. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet.* 1996 Jul;5(7):933-4

Wittenberger MD, Hagerman RJ, Sherman SL, McConkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW, Corrigan EC, Simpson JL, Nelson LM. The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril* 87: 456–465, 2007.

Zuccarello D, Ferlin A, Vinanzi C, Prana E, Garolla A, Callewaert L, Claessens F, Brinkmann AO, Foresta C. Detailed functional studies on androgen receptor mild mutations demonstrate their association with male infertility. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008 Apr;68(4):580-8

POLIABORTIVITA'

Coccia Maria Elisabetta, Rizzello Francesca; Romanelli Chiara

Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università degli Studi di Firenze

Definizione

La poliabortività o aborto ricorrente è definita come la perdita di due o più gravidanze consecutive prima della ventesima settimana di epoca gestazionale, maggiormente entro la 12 settimana (le gravidanze molari, ectopiche e biochimiche non sono incluse nella definizione), in presenza o in assenza di precedenti gravidanze a termine. La definizione si riferisce alla 'gravidanza clinica' documentata ecograficamente o con esame istopatologico [1-2].

La poliabortività si distingue in primaria, qualora nessuna gravidanza sia portata a termine, o secondaria nel caso in cui nella storia della coppia vi sia almeno una gravidanza a termine [3].

Epidemiologia

Mentre l'aborto sporadico e clinicamente riconosciuto riguarda approssimativamente il 15-25% delle gravidanze, si stima che la condizione di poliabortività definita come ripetizione di due aborti consecutivi, riguardi meno del 5% delle donne e meno dell'1% se si considerano tre aborti consecutivi [2].

Fisiopatologia

Le cause alla base della poliabortività possono essere: genetica, endocrina, anatomica, immunologica, infettiva, trombofilica oppure comprendere più fattori ambientali e abitudini voluttuarie che generalmente rappresentano fattori di rischio per abortività. Va indagato anche il partner maschile, ma nel 50% dei casi, nonostante siano eseguite indagini approfondite, non viene individuata alcuna anomalia o fattore predisponente (poliabortività idiopatica o 'sine causa') [4].

Causa genetica

L'aneuploidia fetale è la più importante causa di aborto prima della decima settimana. Almeno il 50-60% degli aborti sono associati ad anomalie citogenetiche, in particolare la

più frequente risulta essere la trisomia, seguita da poliploidia e monosomia X. Tuttavia, più alto è il numero di aborti, inferiore è la probabilità che possano essere legati ad anomalie cromosomiche. Di conseguenza anomalie cromosomiche nel prodotto del concepimento sono più frequenti negli aborti sporadici [5]. Il rischio di un aborto sporadico tra le 6 e 12 settimane di epoca gestazionale in donne più giovani di 35 anni varia dal 9 al 12%. Tale rischio aumenta con l'aumentare dell'età delle pazienti fino a raggiungere il 50% circa sopra i 40 anni. Il rischio di aneuploidie per ogni fascia di età è inferiore nelle donne con poliabortività [6-7].

La maggior parte delle aneuploidie deriva da errori della prima divisione meiotica dell'ovocita, che inizia in fase prenatale e non si completa fino all'ovulazione. Nonostante la riconosciuta associazione tra età materna e aneuploidie fetali, poco si conosce sui meccanismi alla base. Secondo un'ipotesi, la donna ha un pool limitato di ovociti e l'invecchiamento comporta la riduzione di ovociti ottimali. Di conseguenza le pazienti con un pregresso feto con trisomia spesso presentano una ridotta riserva ovarica e raggiungono la menopausa più precocemente. Inoltre è stata riportata un'aumentata percentuale di anomalie cromosomiche a livello degli spermatozoi in coppie con aborti ripetuti ma solo il 7% delle trisomie fetali è stato attribuito ad errori meiotici paterni [4-8]. In circa il 2-5% delle coppie con abortività ripetuta, uno dei due partner è portatore di una traslocazione reciproca bilanciata in cui c'è uno scambio di due segmenti terminali di differenti cromosomi, oppure una traslocazione Robertsoniana in cui vi è una fusione centrica di due cromosomi acrocentrici. I portatori di una traslocazione reciproca bilanciata sono fenotipicamente normali ma il 50-70% dei loro gameti, e quindi embrioni, sono sbilanciati a causa di un'anomala segregazione durante la meiosi [4-9].

In questi casi è importante un'accurata consulenza genetica. La possibilità di una gravidanza a termine in pazienti con cariotipo anomalo e abortività ripetuta è ridotta rispetto a coppie con cromosomi normali (66% vs 78%); tuttavia un cariotipo anomalo può non essere la causa di abortività ricorrente e il cariotipo parentale può non essere predittivo di una gravidanza successiva. In ogni caso i possibili effetti di una traslocazione bilanciata sulla gravidanza dipendono dal cromosoma(i) interessato(i) e dal tipo di riarrangiamento [10-11].

Nei casi in cui uno dei due partner sia portatore di un'anomalia genetica strutturale, i test di genetica preimpianto (PGT), l'amniocentesi o la villocentesi rappresentano delle opzioni per individuare anomalie nella fase prenatale. I possibili trattamenti consistono nella

diagnosi preimpianto (PGD) per traslocazioni specifiche, con transfer di embrioni sani, o l'utilizzo di gameti da donatore [1]. Di particolare interesse è il dato riguardante la percentuale (37-63%) di gravidanze a termine in coppie con anomalie strutturali del cariotipo che concepiscono spontaneamente, con il 65-83% di gravidanze cumulative, rispetto al 31-35% per ciclo ottenuta dopo Fecondazione in Vitro e trasferimento embrionale (FIVET) e PGD [12-14].

Uno studio più recente riporta la percentuale di nati vivi a termine in queste coppie, del 37.8%, dopo FIVET e PGD e del 53.8% senza trattamento. Gli autori hanno evidenziato come la PGD, nonostante possa ridurre la percentuale di aborti, abbia gli svantaggi dovuti ai costi della tecnica e del mancato concepimento spontaneo [15]. Pertanto vi sono dati insufficienti che dimostrino che la FIVET associata alla diagnosi preimpianto migliori la possibilità di live births rate in queste coppie [1].

Attualmente un'area di ricerca attiva è costituita dagli studi su polimorfismi genetici e su geni responsabili per un'alterata decidualizzazione dell'endometrio che potrebbero essere alla base della poliabortività [16-17].

Causa endocrina

Le disfunzioni endocrine riguardano circa il 15-20% di tutti i casi di poliabortività. In particolare il diabete mellito scarsamente controllato e le disfunzioni tiroidee significative [18]. La tiroidite autoimmune appare legata all'abortività ripetuta anche in condizioni di eutiroidismo, anche se il numero di aborti non sembra essere legato al livello di anticorpi. E' stata riportata un'interazione tra anticorpi antifosfolipidi e anti-tiroide nei casi di poliabortività [19].

In merito alle modalità di screening, trattamento e valori limite di TSH non esiste ancora accordo unanime. Vi è tuttavia consenso diffuso nell'adottare 2.5 mIU/L come cut-off ottimale di TSH [1,20]. I livelli di Vitamina D appaiono ridotti in donne con autoimmunità tiroidea e questa deficienza pare legata sia all'infertilità che all'abortività [21].

Nell'8-10% delle donne con poliabortività è riportata la sindrome dell'ovaio policistico, che è anche legata ad iperandrogenismo, obesità e iperinsulinismo. Queste condizioni potrebbero favorire l'abortività a seguito di alterazione dei meccanismi di fibrinolisi, importanti nel rimodellamento del tessuto nella fase di impianto embrionario [22,23].

L'iperprolattinemia sembra associata a disturbi ovulatori in generale e ad abortività ripetuta. In uno studio [24] la normalizzazione dei livelli di prolattina con dopamino-agonisti ha migliorato l'outcome gravidico in pazienti con abortività ricorrente.

Il ruolo di altre disendocrinopatie come il deficit della fase luteale rimane controverso [30].

Causa anatomica

Le malformazioni uterine congenite sono diagnosticate nel 10-15% delle donne con abortività ripetuta. L'utero setto è quella più frequente (35%), probabilmente a causa di una insufficienza vascolare a livello del setto uterino. Pertanto, una maggior profondità del setto sembra corrispondere ad una peggiore prognosi. Nelle pazienti con utero arcuato vi è una maggior tendenza ad abortire nel secondo trimestre ed è controverso il ruolo nell'abortività ripetuta [4].

Fibromi che deformano la cavità uterina aumentano la probabilità di aborto, mentre riguardo ai fibromi intramurali e sottosierosi vi sono ancora dati discordanti. Tradizionalmente i ricercatori hanno postulato che i fibromi uterini abbiano un effetto meccanico/occupante spazio che impedisce il corretto impianto dell'embrione. Più recentemente, in uteri fibromatosi, è stata osservata una ridotta espressione del gene HOXA 10 e HOXA 11, che controlla la differenziazione ed è coinvolto nei processi di impianto [25].

Recenti studi indicano anche l'adenomiosi come possibile fattore di abortività mediante meccanismi immunologici [26]. Rimane tuttora dibattuto il ruolo della sindrome di Asherman/sinechie uterine e dei polipi endometriali [27]. L'insufficienza cervicale è un fattore di rischio riconosciuto per aborto tardivo, sebbene l'incidenza reale sia sconosciuta. Inoltre non esistono ad oggi test efficaci per identificare donne non in gravidanza con incompetenza cervicale. Donne a maggior rischio sono pazienti con pregressa conizzazione, collagenopatie, anomalie cervico-uterine congenite [4].

Anomalie immunologiche

Dal punto di vista immunologico, la sopravvivenza del feto semiallogenico dipende dalla cooperazione tra il sistema immunitario materno e gli antigeni fetali. Numerose ricerche hanno avuto come oggetto il ruolo delle cellule natural killer (NK) nell'aborto ripetuto. Le cellule NK sono linfociti e fanno parte del sistema immunitario innato; si trovano sia nel sangue periferico che nella mucosa uterina ma svolgono funzioni distinte in relazione a

ciascuna sede. La distribuzione spazio-temporale di queste cellule a livello della mucosa uterina suggerisce che esse svolgano un ruolo importante nell'invasione trofoblastica. Le donne con aborti ripetuti hanno più cellule NK nella mucosa uterina rispetto ai controlli e a maggiori concentrazioni di tali cellule corrisponde una maggior percentuale di aborti nelle gravidanze successive in assenza di trattamento. Tuttavia non è stata dimostrata una relazione tra cellule della mucosa uterina e NK nel sangue periferico. Lo studio delle caratteristiche fenotipiche cellulari conferma che le cellule NK uterine sono cellule non-T diverse rispetto alle cellule trovate nel sangue periferico. La maggior parte delle cellule NK uterine sono CD56brightCD16⁻, mentre le NK periferiche sono CD56dimCD16⁺. Sebbene una piccola quota (10%) di cellule NK uterine sia stata individuata nel sangue periferico, queste cellule rappresentano una sottopopolazione distinta [28].

Le cellule NK uterine contribuiscono alla produzione di citochine a livello dell'interfaccia materna. Generalmente tale risposta si caratterizza sia come tipo T-helper-1 (Th-1) (con produzione di IL2, IFN, TNF α) o di tipo Th-2 (con IL 4,6 e 10). Una gravidanza normale può essere il risultato di una risposta di tipo Th-2, nella quale anticorpi bloccanti mascherano gli antigeni trofoblastici dal riconoscimento materno di tipo citotossico cellulo mediato Th-1. Questa ipotesi supporta una possibile alterazione del sistema di immuno-tolleranza del feto come possibile causa dell'abortività ripetuta. Tuttavia rimane ancora da individuare il sottogruppo di pazienti che producono un profilo dominante Th-1 e i possibili interventi immunomodulatori necessari a promuovere una dominanza di tipo Th-2 [4].

Numerosi autori hanno osservato alterazioni dei livelli di autoanticorpi nelle donne con abortività ripetuta. I dati di cui disponiamo ad oggi sono tuttavia scarsi e discordanti. [4].

Sindrome da anticorpi antifosfolipidi

La sindrome da anticorpi antifosfolipidi si definisce come l'associazione di anticorpi antifosfolipidi con eventi di trombosi venosa e/o arteriosa e con morbidità embrio-fetale. La sindrome da anticorpi antifosfolipidi 'ostetrica' si riferisce a donne con le sole complicanze ostetriche legate alla sindrome da anticorpi antifosfolipidi e non a storia di eventi trombotici ricorrenti al momento della diagnosi.

Gli anticorpi antifosfolipidi sono una famiglia di circa 20 anticorpi diretti contro le proteine del plasma leganti i fosfolipidi. Includono gli anticorpi anti cardiolipina, il lupus anticoagulant e gli anticorpi anti- β 2 glicoproteina I (a β 2GPI).

Secondo la consensus statement per la classificazione della sindrome da anticorpi antifosfolipidi [29], i criteri diagnostici sono:

- **Criteri clinici** (uno o più): .

1. Trombosi vascolari: uno o più episodi di trombosi arteriosa, venosa o dei piccoli vasi in ogni tessuto/organo, che siano confermati oggettivamente.

2. Morbidity Ostetrica:

a. tre o più aborti consecutivi, inspiegati, prima della decima settimana;

b. una o più morti di un feto morfologicamente normale ad un'epoca gestazionale di 10 settimane o più avanzata;

c. una o più nascite premature di un feto morfologicamente normale a 34 settimane di gestazione, o inferiore, associato a pre-eclampsia severa o insufficienza placentare.

- **Criteri di laboratorio** (uno o più, presenti in due o più occasioni a distanza di 12 settimane):

1 . Lupus anticoagulant, in accordo con le linee guida International Society on Thrombosis and Haemostasis;.

2. Anticorpi anticardiolipina IgG e/o IgM nel siero o plasma, presenti in medio o alto titolo (>40 g/l or ml/l, o >99° centile) misurato da metodo ELISA standardizzato;

3. Anticorpi anti β 2GPI IgG e/o IgM nel siero o plasma, presenti in medio o alto titolo (>40 g/l or ml/l, o >99° centile) misurato da metodo ELISA standardizzato

La prevalenza della sindrome da anticorpi antifosfolipidi in donne con abortività ripetuta è del 5-15% ed è spesso associata ad altre complicanze ostetriche come ritardo di crescita intrauterino, parto pretermine, pre-eclampsia precoce, sindrome HELLP, ematoma sub-coriale e distacco di placenta [30].

Gli anticorpi antifosfolipidi interferiscono con il sistema di trasduzione che controlla la decidualizzazione delle cellule endometriali, promuovono l'apoptosi del trofoblasto, riducono la fusione del trofoblasto, alterano l'invasione trofoblastica, attivano la via del complemento a livello dell'interfaccia feto-materna con successiva flogosi e trombosi dei vasi uteroplacentari [4,9,30]. Gli effetti degli anticorpi antifosfolipidi sono inibiti in vitro dall'eparina a basso peso molecolare [31,32].

Agenti infettivi

La causa infettiva nell'abortività ripetuta rimane speculativa, in quanto ogni agente infettante dovrebbe essere capace di persistere nel tratto genitale senza essere diagnosticato e non produrre sintomatologia materna significativa.

Diverse infezioni sono state associate all'aborto sporadico e ad altri esiti ostetrici avversi come la morte intrauterina e il parto prematuro. In particolare, il 15% degli aborti precoci ed il 66% di quelli tardivi è stato attribuito ad infezioni [33]. In uno studio effettuato su tessuto ottenuto da materiale abortivo, il 78% di 101 campioni sono risultati infetti con batteri (corionamniotiti) mentre tutti i campioni di tessuto ottenuti da interruzioni volontarie di gravidanza erano non infetti [34]. Una recente review ha evidenziato l'associazione tra malaria, brucellosi, citomegalovirus, HIV (human immunodeficiency virus), dengue, influenza e vaginosi batterica con un aumentato rischio di abortività. Mentre per altri agenti infettivi i dati ad oggi disponibili non appaiono conclusivi [35]. Ulteriori segnalazioni riguardano il virus Zika, che aumenterebbe il rischio di abortività in quanto capace di replicarsi nelle cellule amniotiche pluripotenti coinvolte nello sviluppo iniziale dell'embrione [36]. Data l'assenza di dati convincenti nelle pazienti con poliabortività, non vi sono indicazioni per effettuare indagini infettivologiche di routine o per la prescrizione di terapie antibiotiche profilattiche [1].

Trombofilia congenita

La gravidanza di per sé rappresenta uno stato di ipercoagulabilità. I primi studi sulle anomalie della coagulazione in donne con storia di eventi ostetrici avversi risalgono alla metà del 1990 e riguardano principalmente tre tipi di mutazione: fattore V (Leiden) G1691A; fattore II (prothrombin) G20210A e metilentetraidrofollato-reduttasi (MTHFR) C677T. Da allora numerose pubblicazioni hanno riportato difetti della coagulazione più frequenti nelle donne con poliabortività rispetto ai controlli [4]. I vari studi sembrano dimostrare che alcune pazienti con storia di poliabortività si trovano in una condizione protrombotica anche al di fuori della gravidanza e pertanto sono a maggior rischio di ischemia e patologia cardiaca [4].

Inoltre, in circa i 2/3 degli aborti al primo trimestre, vi è l'evidenza istologica di una precoce irrorazione da parte del sangue materno negli spazi inter-villosi placentari su tutta la placenta. Il sangue materno comporterebbe l'instaurarsi di uno stato ossidativo con

conseguente apoptosi trofoblastica [37,38]. Questo reperto appare indipendente dal cariotipo del prodotto del concepimento [4].

Ad oggi la letteratura in merito ai disordini trombofilici congeniti nelle pazienti con storia di poliabortività è contrastante. Gli studi più recenti hanno evidenziato un'associazione principalmente con le perdite fetali più tardive, dovute essenzialmente all'attivazione della trombosi nei vasi utero-placentari. I polimorfismi prevalenti sono quelli dell'eterozigosi per il fattore V di Leiden ed eterozigosi per il gene della protrombina (G20210A). La poliabortività è stata anche attribuita ad alterazioni dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno 4G/5G e omozigosi per la mutazione della MTHFR. L'associazione con altri deficit come quello della proteina C ed S è ancora dibattuto [39]. E' stato inoltre riportato come la presenza di più mutazioni combinate comporti un incremento del rischio, soprattutto nell'aborto tardivo. Non esistono studi su eventuali effetti di mutazioni protrombotiche paterne [30].

Percorso Diagnostico

Le coppie con storia di poliabortività dovrebbero essere indirizzate presso centri dedicati alla Poliabortività. Il percorso diagnostico prevede:

1. **accurata anamnesi medico-ostetrica**, con particolare attenzione alla storia familiare per eventi trombo-embolici (storia familiare positiva per trombo-embolismo venoso, principalmente in soggetti giovani e in sedi inusuali, può essere legata a trombofilia ereditaria o sindrome da anticorpi antifosfolipidi), eventi ostetrici sfavorevoli, malattie autoimmuni e disordini endocrinologici; pregressa storia ostetrica personale, incluso epoca gestazionale degli aborti e trattamenti successivi. E' stata infatti notata la ripetizioni degli aborti in epoca gestazionale simile in pazienti con poliabortività [40].

Pregressi parti pretermine e malpresentazioni possono suggerire incompetenza cervicale o malformazioni uterine.

2. **Esame fisico:** valutazione generale con particolare attenzione ai segni di endocrinopatia (obesità, irsutismo, galattorrea), malattie autoimmuni (teleangectasie, rash malare) e anomalie degli organi pelvici (malformazioni uterine, lacerazioni cervicali) [30].

3. Test strumentali:

- a. Ecografia pelvica transvaginale;
- b. Sonoisterosalpingografia

Tali esami hanno l'obiettivo principale di valutare l'anatomia uterina. Qualora vi sia il sospetto di malformazioni, ulteriori valutazioni di II livello comprendono, l'ecografia tri-dimensionale e l'isteroscopia

4. Esami di laboratorio:

a. Esame citogenetico del prodotto del concepimento del terzo aborto e successivi
Nonostante opinioni contrastanti sulla sua utilità, l'esame citogenetico del materiale abortivo permetterebbe, in caso di diagnosi di aneuploidia, di individuare coppie con migliori chances di successo nelle gravidanze successive [11].

b. Cariotipo parentale da sangue periferico di entrambi i partner.

Secondo il Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) [9], questo esame dovrebbe essere riservato alle coppie con storia di poliabortività qualora l'esame citogenetico del prodotto del concepimento avesse individuato un'anomalia cromosomica strutturale non bilanciata; la più recente Practice Committee dell'American Society for Reproductive Medicine [1] propone che lo studio del cariotipo di entrambi i partner debba essere effettuato in ogni caso di poliabortività.

c. Fattore V Leiden, fattore II (protrombina) e proteina S [9].

Tali test dovrebbero eseguiti al di fuori della gravidanza, soprattutto per la proteina S.

d. Anticorpi antifosfolipidi (Lupus anticoagulant, anticorpi anticardiolipina IgG e/o IgM, anticorpi anti β 2GPI IgG e/o IgM) con positività confermata in almeno 2 prelievi successivi a distanza di 12 settimane.

e. Dosaggio in fase follicolare precoce (2°-4° giorno del ciclo mestruale) di FSH, LH, 17β -Estradiolo, Inibina B, Fattore Anti-Mülleriano (AHM), Prolattina (in 2 dosaggi: basale e dopo 30 minuti a paziente supina, prelievo da effettuare con l'inserimento una sola volta dell'ago);

f. Dosaggio tireotropina (TSH), ormoni tiroidei (fT3, fT4), anticorpi antitireoglobulina, anticorpi antiperossidasi tiroidea, anticorpi anti-recettori della tireotropina.

Spesso nelle coppie con poliabortività la difficoltà a procreare sfocia in un'infertilità di tipo secondario. Pertanto è raccomandabile effettuare uno spermioγραμμα con test di capacitazione. Tuttavia non è ancora chiara la relazione tra parametri seminali e poliabortività. Inoltre, secondo alcune evidenze, nei partner maschili di coppie con poliabortività, risulta un aumento del livello di frammentazione del DNA degli spermatozoi. Comunque un alto livello di frammentazione non può ancora essere considerato come fattore per il rischio di abortività ripetuta [41].

Lo screening genetico preimpianto (PGS) di blastomeri biopsiati in corso di cicli FIVET non si è dimostrato utile nel migliorare l'outcome riproduttivo in queste coppie, bensì la percentuale di abortività, pertanto ad oggi il suo impiego routinario non è giustificato [42], ad eccezione delle coppie in cui uno dei due partner sia portatore di una traslocazione robertsoniana sul cromosoma 21 [30]. La diagnostica preimpianto comunque rappresenta ancora tema controverso e dibattuto [43, 44].

Conclusioni

La poliabortività rappresenta una condizione emotivamente e fisicamente traumatizzante per la coppia, che vive con ansia la possibilità di un nuovo aborto alla gravidanza successiva. Le coppie con storia di due aborti ripetuti, consecutivi dovrebbero essere valutati in centri di riferimento dedicati alla Poliabortività. Gli studi di immunologia riproduttiva, endocrinologia e genetica hanno delineato un nuovo modello di approccio multidisciplinare nella diagnosi e trattamento della poliabortività. Il percorso diagnostico comprende una valutazione approfondita dei dati anamnestici integrata con esami strumentali e biochimici. Tuttavia, nonostante i numerosi progressi, ancora oggi, in circa il 50% delle coppie non viene identificata la/le causa/e.

Bibliografia

- 1- Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril. 2013; 99(1):63
- 2- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril 2012; 98(5):1103-11).
- 3- Stirrat GM. Recurrent miscarriage. Lancet 1990; 336(8716):673-675
- 4- Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. Lancet 2006; 368(9535):601-11
- 5- Kwinecka-Dmitriew B, Zakrzewska M, Latos-Bieleńska A et al. Frequency of chromosomal aberrations in material from abortions. Ginekol Pol 2010;81:896–901
- 6- Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. Hum Reprod. 2002; 17(2):446-51.

- 7- Knudsen UB, Hansen V, Juul S, Secher NJ. Prognosis of a new pregnancy following previous spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1991; 39(1):31-6.
- 8- Robinson WP, Bernasconi F, Lau A, McFadden DE. Frequency of meiotic trisomy depends on involved chromosome and mode of ascertainment. *Am J Med Genet* 1999; 84: 34–42.
- 9- Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First-trimester and Second-trimester Miscarriage. Green-top Guideline No. 17 April 2011
- 10- Sugiura-Ogasawara M, Aoki K, Fujii T, et al. Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement. *J Hum Genet* 2008; 53:622–8
- 11- Carp H, Guetta E, Dorf H, et al. Embryonic karyotype in recurrent miscarriage with parental karyotypic aberrations. *Fertil Steril* 2006; 85:446–50
- 12- Franssen MT, Musters AM, van der Veen F, et al. Reproductive outcome after PGD in couples with recurrent miscarriage carrying a structural chromosome abnormality: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2011;17:467–75
- 13- Fischer J, Colls P, Escuredo T, Munne S (2010) Preimplantation genetic diagnosis (PGD) improves pregnancy outcome for translocation carriers with a history of recurrent losses. *Fertil Steril* 2010; 94:283–289
- 14- Ozawa N, Maruyama T, Nagashima T, Ono M, Arase T, Ishimoto H, et al. Pregnancy outcomes of reciprocal translocation carriers who have a history of repeated pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008; 90:1301–1304
- 15- Ikuma S, Sato T, Sugiura-Ogasawara M, Nagayoshi M, Tanaka A, Takeda S. Preimplantation Genetic Diagnosis and Natural Conception: A Comparison of Live Birth Rates in Patients with Recurrent Pregnancy Loss Associated with Translocation. *PLoS One.* 2015 Jun 17;10(6):e0129958
- 16- Huang JY, Su M, Lin SH, et al. A genetic association study of NLRP2 and NLRP7 genes in idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2013;28:1127–34.
- 17- Salker M, Teklenburg G, Molokhia M, et al. Natural selection of human embryos: impaired decidualization of endometrium disables embryo-maternal interactions and causes recurrent pregnancy loss. *PLoS One* 2010;5:e10287
- 18- Arredondo F, Noble LS. Endocrinology of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 2006;24:33–9
- 19- De Carolis C, Greco E, Guarino MD, et al. Anti-thyroid antibodies and antiphospholipid syndrome: evidence of reduced fecundity and of poor pregnancy outcome in recurrent spontaneous aborters. *Am J Reprod Immunol* 2004;52:263–6

- 20- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, Nixon A, Pearce EN, Soldin OP, Sullivan S, Wiersinga W; American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011; 21(10):1081-125.
- 21- Twig G, Shina A, Amital H, et al. Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *J Autoimmun* 2012;38:J275–8122- Rai R, Backos M, Rushworth F, Regan L. Polycystic ovaries and recurrent miscarriage- a reappraisal. *Hum Reprod* 2000; 15:612–15.
- 23- Carrington B, Rai R, Regan L. Polycystic ovaries, insulin resistance, hypofibrinolysis and recurrent miscarriage. *J Soc Gynecol Investig* 2005; 12: 20 (abstr)
- 24- Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril*. 1998;70(2):246-52.
- 25- Unlu C, Celik O, Celik N, Otlu B. Expression of Endometrial Receptivity Genes Increase After Myomectomy of Intramural Leiomyomas not Distorting the Endometrial Cavity. *Reprod Sci*. 2016; 23(1):31-41.
- 26- Vercellini P, Consonni D, Dridi D, Bracco B, Frattaruolo MP, Somigliana E. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2014; 29(5):964-77
- 27- Pérez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, et al. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod* 2005;20:1632–5
- 28- Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. *Int J Dev Biol*. 2014;58(2-4):219-29
- 29- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295–306
- 30- Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Recurrent miscarriage: causes, evaluation and management. *Postgrad Med J*. 2015;91(1073):151-62
- 31- Bose P, Black S, Kadyrov M, et al. Heparin and aspirin attenuate placental apoptosis in vitro: implications for early pregnancy failure. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:23–30
- 32- Bose P, Black S, Kadyrov M, et al. Adverse effects of lupus anticoagulant positive blood sera on placental viability can be prevented by heparin in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:2125–31

- 33- Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, Entrican G, Howie SE, Horne AW. The role of infection in miscarriage. *Hum Reprod Update* 2016; 22(1):116-33
- 34- Allanson B, Jennings B, Jacques A, Charles AK, Keil AD, Dickinson JE. Infection and fetal loss in the mid-second trimester of pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2010; 50:221– 225
- 35- Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, Entrican G, Howie SE, Horne AW. The role of infection in miscarriage. *Hum Reprod Update* 2016; 22(1):116-33
- 36- van der Eijk AA, van Genderen PJ, Verdijk RM, Reusken CB, Mögling R, van Kampen JJ, Widagdo W, Aron GI, GeurtsvanKessel CH, Pas SD, Raj VS, Haagmans BL, Koopmans MP. Miscarriage Associated with Zika Virus Infection. *N Engl J Med.* 2016; 375(10):1002-4.).
- 37- Hempstock J, Jauniaux E, Greenwold N, Burton GJ. The contribution of placental oxidative stress to early pregnancy failure. *Hum Pathol* 2003; 34:1265–75
- 38- Jauniaux E, Greenwold N, Hempstock J, Burton GJ. Comparison of ultrasonographic and Doppler mapping of the intervillous circulation in normal and abnormal early pregnancies. *Fertil Steril* 2003; 79: 100–06
- 39- Davenport WB, Kutteh WH. Inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: a review of screening patterns and recommendations. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2014;41:133–44
- 40- Coccia ME, Rizzello F, Capezzuoli T, Spitaleri M, Riviello C. Recurrent pregnancy losses and gestational age are closely related: an observational cohort study on 759 pregnancy losses. *Reprod Sci.* 2015;22(5):556-62.
- 41 -Carlini T, Paoli D, Pelloni M, Faja F, Dal Lago A, Lombardo F, Lenzi A, Gandini L. Sperm DNA fragmentation in Italian couples with recurrent pregnancy loss. *Reprod Biomed Online* 2016; Oct 20. pii: S1472-6483(16)30562-4
- 42 - Murugappan G, Shahine LK, Perfetto CO, Hickok LR, Lathi RB. Intent to treat analysis of in vitro fertilization and preimplantation genetic screening versus expectant management in patients with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1668-74
- 43 - Rienzi L1,2, Capalbo A3,2, Vajta G4, Ubadi FM3,2. PGS for recurrent pregnancy loss: still an open question. *Hum Reprod.* 2016 Dec 13. [Epub ahead of print]
- 44- Murugappan G1, Lathi RB2. Reply: PGS for recurrent pregnancy loss-still an open question. *Hum Reprod.* 2016 Dec 13. [Epub ahead of print]