

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

IL PERCORSO CLINICO – DIAGNOSTICO DELLA COPPIA INFERTILE

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.

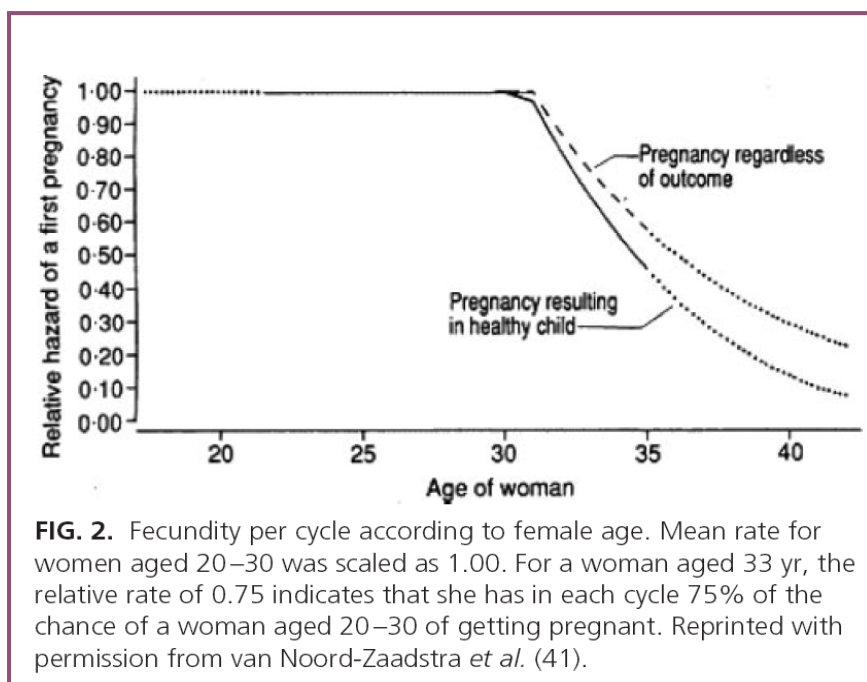
LA RISERVA OVARICA

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

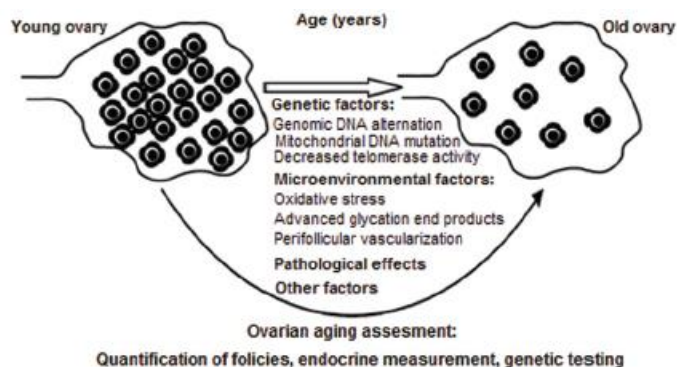
L'unità funzionale dell'ovaio sia per quanto riguarda la funzione endocrina che per quella gametogenetica è costituita dal follicolo ovarico. Il patrimonio follicolare della donna va incontro ad una fisiologica ed inarrestabile riduzione nel corso degli anni, con una sensibile accelerazione dopo i 33 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 *feed back* 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 ovcitaria. 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-mulleriano 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 *counselling* 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-Mullerian 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.* Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. Fertil Steril 2002; 77: 357-62.
- 8) AJ Van Rooij *et al.* Serum antimullerian 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-mullerian hormone dynamics during controller ovarian hyperstimulation. Hum Reprod 2003; 18:328-32.
- 10) B Almog *et al.* Age-related normograms of serum antimullerian 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 antimullerian 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 rappresenta 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 i 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 culturali 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 aumenti 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. Update 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. *JSL* 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 assesment 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, Di´az-García C, Simo´n 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, Ozyer S, Ozcan S, Uzunlar O , Gu¨rlek B, Moraloglu O , 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 Herendael 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 BioMed 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 SF, 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 SF, 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 ipostrogenismo 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. È 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. È noto come eventi stressanti acuti possano alterare la pulsatilità 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 infertili (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 (Kapitaki 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].

Contracezione

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

endometriosa, 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. Terzioglu, 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 anatomico-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 (<i>Ipogonadismo ipergonadotropo</i>)	- disgenesie gonadiche - deficit della steroidogenesi - s. dell'ovaio resistente
	B. Insufficienza ipotalamo-ipofisaria (<i>Ipogonadismo ipogonadotropo</i>)	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 carpo 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.

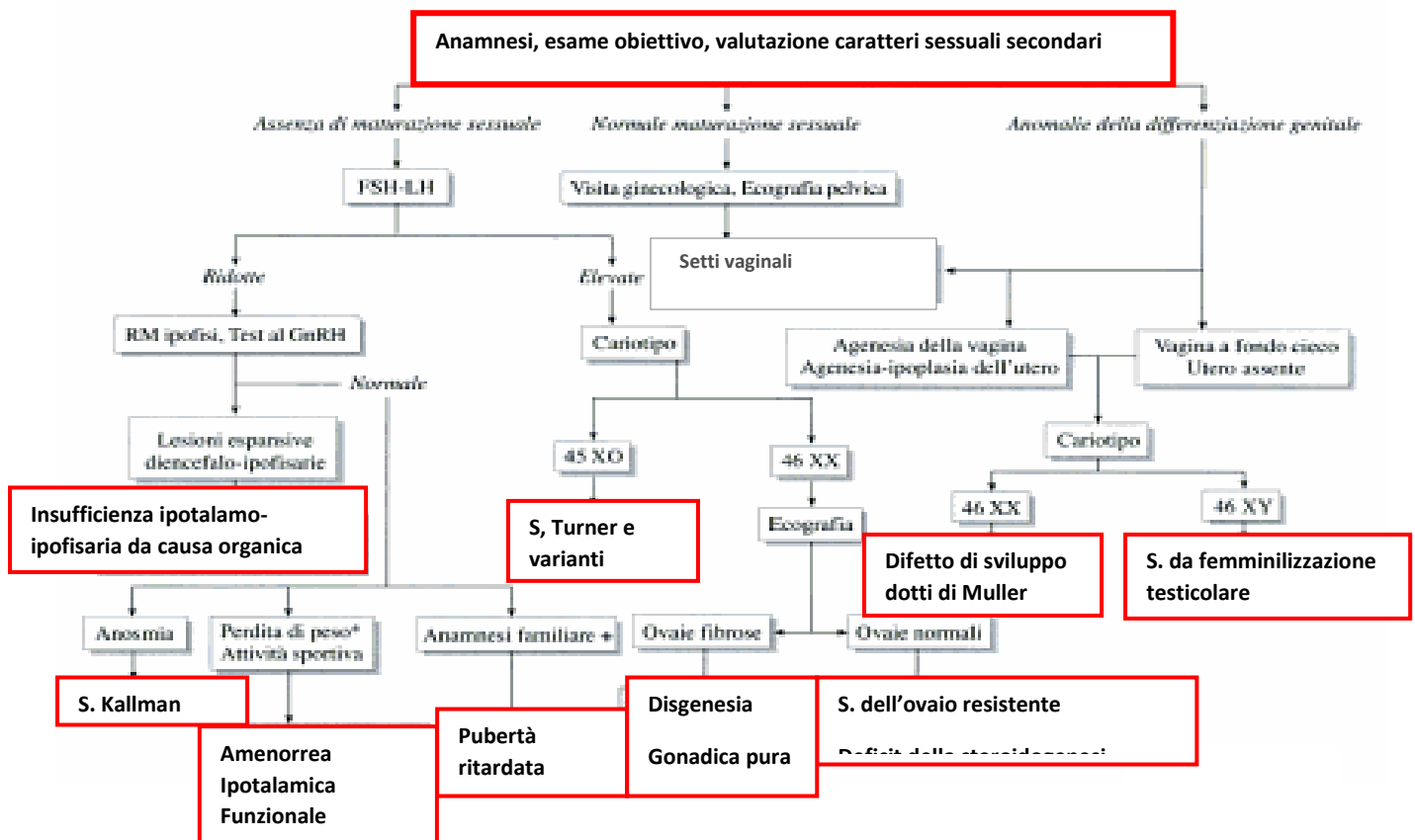


Tabella III. Diagnosi di amenorrea primaria (indagini strumentali e di laboratorio a confronto)

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
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 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

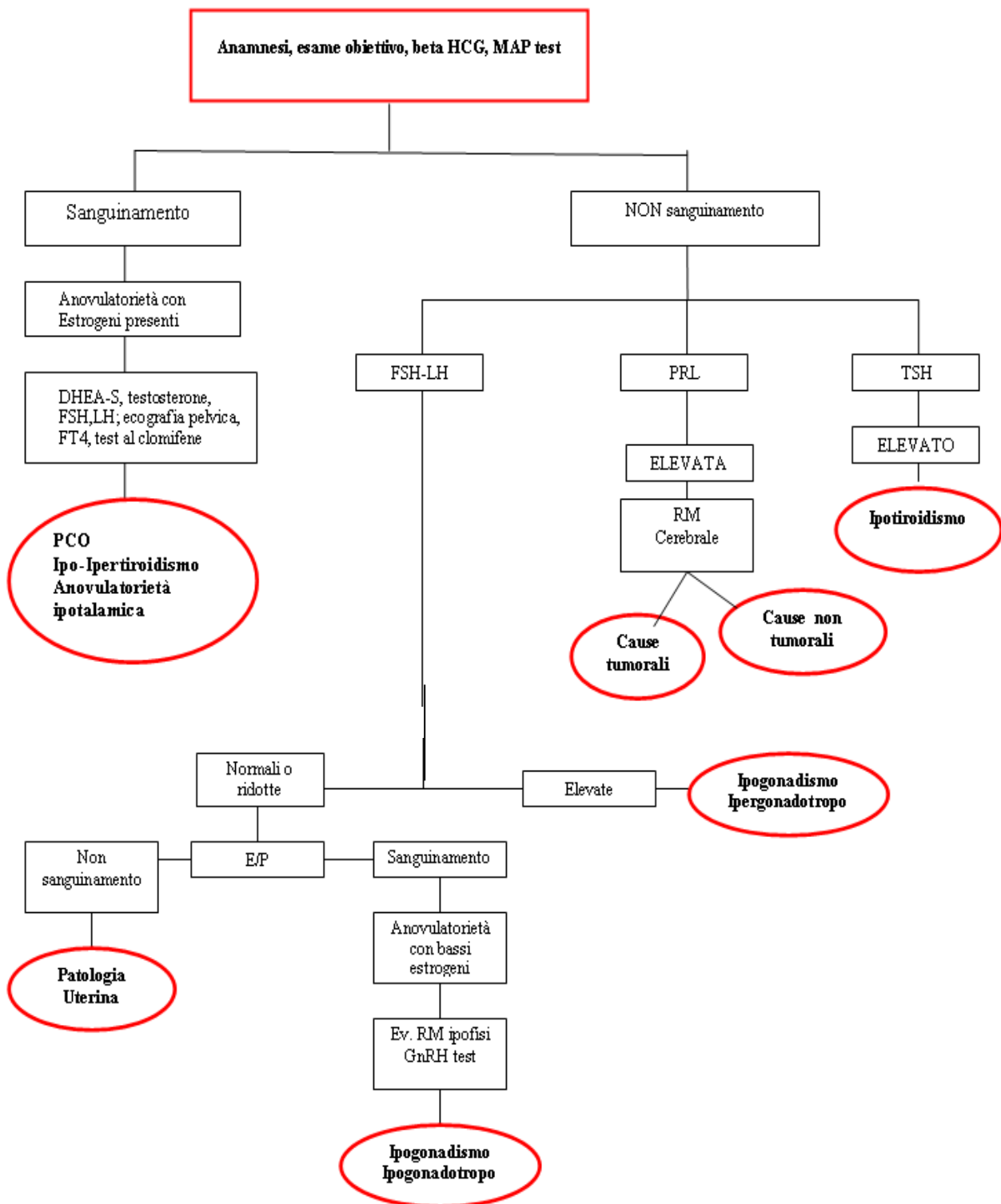
In particolare:

- 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-iper-cortisolismo), 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 "tirootropin 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 stimolate 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 obliterazione 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.
- Kiningsham 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.

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). Poiché 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 progressi 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) Fayez 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, Daguati 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.

