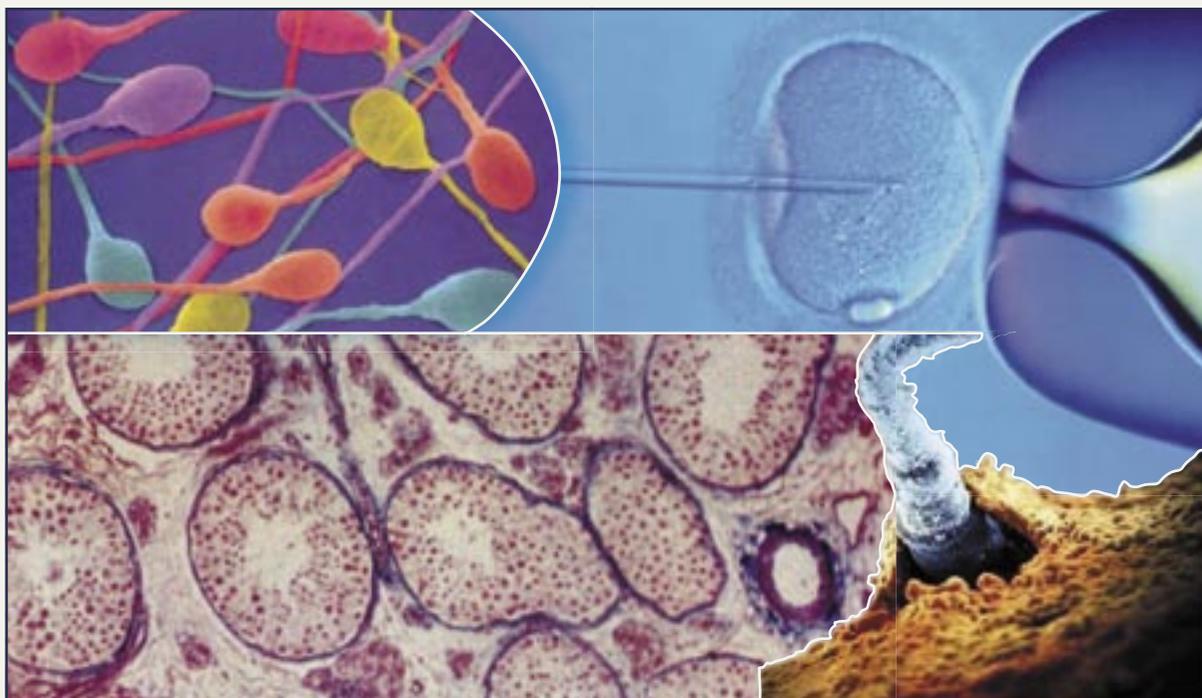


Giornale Italiano di MEDICINA SESSUALE e RIPRODUTTIVA

Italian Journal of Sexual and Reproductive Medicine

Organo Ufficiale di Educazione Continua in Medicina della Società Italiana di Andrologia
www.andrologiaitaliana.it



Giornale Italiano di MEDICINA SESSUALE e RIPRODUTTIVA *Italian Journal of Sexual and Reproductive Medicine*

Organo Ufficiale di Educazione Continua in Medicina della Società Italiana di Andrologia

Già Giornale Italiano di Andrologia, fondato nel 1994 da F. Menchini Fabris

www.andrologiaitaliana.it

Direttori Scientifici / Editors in Chief

Edoardo S. Pescatori (Modena), Paolo Turchi (Prato)

Direttore Responsabile / Managing Editor

Vincenzo Gentile (Roma)

Board Editoriale / Editorial Board

Antonio Aversa (Roma)

Mauro Costa (Genova)

Ignacio Moncada Ibarren (Madrid)

Furio Pirozzi Farina (Sassari)

Andrea Salonia (Milano)

Collaborazione Editoriale / Editorial Assistant

Paolo Rossi (Pisa)

Consulenza in Medical Writing / Medical Writing Advisor

Giuse Cavallotti (Milano)

Consulenza Statistica / Statistical Advisor

Elena Ricci (Milano)

Copyright

SIAS S.r.l. • via D. Chelini 7 • 00197 Roma

Ufficio Editoriale / Editorial Office

Lucia Castelli • Pacini Editore S.p.A.
Via A. Gherardesca • 56121 Ospedaletto • Pisa
Tel. 050 3130224 • Fax 050 3130300
lcastelli@pacinieditore.it

Editore / Publisher

Pacini Editore S.p.A.
Via A. Gherardesca • 56121 Ospedaletto • Pisa
Tel. 050 313011 • Fax 050 3130300
Pacini.Editore@pacinieditore.it • www.pacinimedica.it



Informazioni per gli Autori, comprese le norme per la preparazione dei manoscritti

Il Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva – *Italian Journal of Sexual and Reproductive Medicine* – è l'organo ufficiale di formazione della Società Italiana di Andrologia, che pubblica, in lingua italiana o inglese, lavori redatti in forma di editoriali, articoli originali, articoli di aggiornamento, articoli finalizzati alla formazione in tema di *evidence-based medicine*, casi clinici, lettere al Direttore. Ogni contributo in linea con le norme editoriali generali e specifiche per le singole rubriche viene sottoposto a processo di *peer-review* in doppio cieco, ed è valutato alla luce delle più recenti linee guida – *Consensus Conferences* internazionali. L'accettazione per pubblicazione è subordinata all'esecuzione di eventuali modifiche richieste dai *reviewers* ed al parere conclusivo dei Direttori.

Le seguenti indicazioni sono state redatte secondo gli *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (Br Med J 1988;296:6/2).

Invio dei manoscritti

L'invio può essere effettuato per posta elettronica all'indirizzo icastelli@pacinieditore.it (modalità preferita) o per posta al seguente indirizzo: **Lucia Castelli, redazione del Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva, Pacini Editore S.p.A., Via Gherardesca 1, 56121 Ospedaletto (PI)** (Tel. 050 3130224 - Fax 050 3130300). Nella lettera di accompagnamento dell'articolo, firmata da tutti gli Autori, deve essere specificato che i contributi sono inediti, non sottoposti contemporaneamente ad altra rivista, ed il loro contenuto conforme alla legislazione vigente in materia di etica della ricerca.

In caso di sperimentazioni su umani, gli Autori devono attestare che tali sperimentazioni sono state svolte secondo i principi riportati nella Dichiarazione di Helsinki (1983); gli Autori sono tenuti a dichiarare di aver ottenuto il consenso informato per la sperimentazione e per l'eventuale riproduzione di immagini. Per studi su cavie animali, gli Autori sono invitati a dichiarare che sono state rispettate le relative leggi nazionali e le linee guida istituzionali. Inoltre tutti i lavori devono contenere in allegato la seguente dichiarazione sottoscritta dagli Autori: "I sottoscritti autori del lavoro ... trasferiscono, nel caso della pubblicazione nel Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva, tutti i diritti d'Autore all'Editore e garantiscono l'originalità del contenuto e la non contemporanea valutazione del lavoro presso altre Riviste".

Conflitto di interessi

Gli Autori devono dichiarare se hanno ricevuto finanziamenti o se hanno in atto contratti o altre forme di finanziamento, personali o istituzionali, con Aziende i cui prodotti sono citati nel testo. *Questa dichiarazione verrà trattata dai Direttori come una informazione riservata*. I lavori accettati verranno pubblicati con l'accompagnamento di una dichiarazione ad hoc, allo scopo di rendere nota la fonte e la natura del finanziamento.

Responsabilità dei testi pubblicati

Gli Autori sono gli unici responsabili delle affermazioni contenute nell'articolo.

Esame dei manoscritti

La Redazione accoglie solo i testi conformi alle norme editoriali generali e specifiche per le singole rubriche. La loro accettazione è subordinata alla revisione critica di esperti, all'esecuzione di eventuali modifiche richieste ed al parere conclusivo dei Direttori scientifici. Gli Autori verranno informati dell'eventuale accettazione o meno dei manoscritti entro 60 giorni, salvo eventuali imprevedibili ritardi. Agli Autori è riservata la correzione ed il rinvio (entro e non oltre 72 ore dal ricevimento) delle sole prime bozze del lavoro. Le eventuali modifiche e correzioni devono essere ridotte al minimo e apportate esclusivamente sulle bozze di stampa. Un

modulo per la richiesta ed il pagamento degli estratti verrà inviato unitamente alle bozze a cura dell'Editore.

Preparazione dei manoscritti

Il testo deve essere scritto preferibilmente con il programma Microsoft Word versione 6.0 o successive oppure salvato in formato .rtf (Rich Text Format) con interlinea 2, margine di 2,5 cm, 25 righe per pagina, carattere Times, corpo 12. Non utilizzare in nessun caso programmi di impaginazione grafica quali Publisher, Aldus Pagemaker o Quark Xpress. Non formattare il testo in alcun modo (evitare stili, bordi, ombreggiature ...).

Le immagini devono essere salvate in uno dei seguenti formati: JPEG-GFIF compliant (.jpg); Power Point (.ppt); Tagged Image File (.tif). I supporti devono essere etichettati con il nome del primo autore, il titolo del lavoro, il nome e la versione del programma utilizzato.

Nel caso di invio per posta, gli articoli in versione cartacea devono essere accompagnati dal relativo dischetto (3 1/2" in formato MS-DOS, Windows o Macintosh) o CD su cui è registrata l'ultima versione corretta del testo, corrispondente alla copia dattiloscritta. I dischetti devono riportare sull'apposita etichetta il nome del primo Autore, il titolo abbreviato dell'articolo, il tipo di sistema operativo (Dos o Macintosh), il programma di scrittura e la versione, il nome del/i file/s del/i documento/i. Ogni file deve obbligatoriamente essere accompagnato dalla relativa copia cartacea.

Norme generali per gli Autori

Il testo deve essere in lingua italiana o inglese. Qualora in italiano, gli Autori dovranno comunque fornire traduzione in Inglese di: titolo del lavoro, parole chiave, riassunto, didascalie delle tabelle e delle figure, delle domande di valutazione e delle relative risposte. Nel testo dell'elaborato non deve essere compreso il nome di nessuno degli Autori, né dell'Istituto di appartenenza, per permettere un processo di *peer revision* con modalità che permettano una valutazione da parte dei revisori senza conoscere l'identità degli Autori (revisione in doppio cieco).

Nella *prima pagina* devono comparire: il titolo, in italiano ed inglese; il nome per esteso e il cognome degli Autori e l'Istituto o ente di appartenenza; le parole chiave, in italiano ed inglese (una lista di 3-10 parole chiave, conformi alle norme dell'*Index Medicus*) ai fini di un inserimento negli elenchi delle banche dati internazionali; la rubrica cui si intende destinare il lavoro (decisione che è comunque subordinata al giudizio della Direzione); il nome, l'indirizzo, il recapito telefonico e l'e-mail dell'Autore cui sono destinate la corrispondenza e le bozze.

Nella *seconda pagina* comparirà il riassunto (breve, non deve superare le 250 parole, ed adeguato all'estensione del testo) in Italiano ed Inglese (*summary*). Il riassunto, che, non dovrà essere semplicemente descrittivo, bensì indicare con precisione lo scopo dello studio, i principali risultati, riportando, se possibile i dati specifici, ed infine le conclusioni essenziali, secondo il seguente schema: Premessa, Scopo, Metodi, Risultati, Conclusioni. Si richiede di utilizzare solamente le abbreviazioni riconosciute a livello internazionale. Nella sezione Scopo va sintetizzato con chiarezza l'obiettivo (o gli obiettivi) del lavoro, vale a dire l'ipotesi che si è inteso verificare; nei Metodi va riportato il contesto in cui si è svolto lo studio, il numero e il tipo di soggetti analizzati, il disegno dello studio (randomizzato, in doppio cieco ...), il tipo di trattamento e il tipo di analisi statistica impiegata. Nella sezione Risultati vanno riportati i risultati dello studio e dell'analisi statistica. Nella sezione Conclusioni va riportato il significato dei risultati soprattutto in funzione delle implicazioni cliniche.

A seguire il testo che potrà essere scritto in italiano o in inglese e suddiviso nelle seguenti sezioni: Introduzione, Metodi, Risultati e Discussione. Le note esplicative, i ringraziamenti, la bibliografia, le

legende e le tabelle dovranno essere riportate nelle ultime pagine su fogli separati, con i testi dattiloscritti come sopra.

La *bibliografia* va limitata alle voci essenziali identificate nel testo con numeri arabi ed elencate al termine del manoscritto nell'ordine in cui sono state citate. Devono essere riportati tutti gli Autori. Le riviste devono essere citate secondo le abbreviazioni riportate su *Index Medicus*.

Esempi di corretta citazione bibliografica per:

Articoli e riviste:

Bisset WM, Watt JB, Rivers RPA, Milla PJ. *Postprandial motor response of the small intestine to enteral feeds in preterm infants*. Arch Dis Child 1989;64:1356-61.

Libri:

Smith DW. *Recognizable patterns of human malformation*. Third Edition. Philadelphia: WB Saunders Co. 1982.

Capitoli di libri o Atti di Congressi:

Milla PJ. *Electrogastrography in childhood: an Overview*. In: Chen JDZ, McCallum RW, eds. *Electrogastrography Principles and Applications*. New York: Raven Press Ltd, 1994:379-96.

- *Le unità di misura*. Tutte le misurazioni dovranno essere espresse in unità SI (*Système International*), riportando eventualmente di seguito, tra parentesi i medesimi dati in unità convenzionali.
- *Le abbreviazioni*. Ad eccezione che per le unità di misura riconosciute, le abbreviazioni sono sconsigliate. La prima comparsa di una abbreviazione deve sempre essere preceduta dal termine completo che la stessa sostituisce.
- *I nomi di farmaci*. Si deve impiegare il nome generico. Se gli autori lo desiderano il nome commerciale può essere indicato in calce.
- *I permessi*. Il materiale desunto da altre fonti dovrà sempre essere accompagnato dal permesso scritto sia dell'Autore che dell'Editore per la riproduzione sulla rivista.
- *Il Copyright*. La rivista è protetta da copyright. Una dichiarazione per il trasferimento alla rivista dei diritti d'autore, verrà apposta tramite timbro, sulle prime bozze di stampa e dovrà essere firmata dall'autore.
- *I ringraziamenti, indicazioni di grants o borse di studio*, vanno citati al termine della bibliografia.
- *Le note*, contraddistinte da asterischi o simboli equivalenti, compariranno nel testo, a piè di pagina.
- *I termini matematici*, formule, abbreviazioni, unità e misure devono conformarsi agli standards riportati in Science 1954;120:1078.
- *Le Tabelle* devono essere pienamente comprensibili e completare il testo, evitando ripetizioni dello stesso. Devono essere contenute nel numero (evitando di presentare lo stesso dato in più forme), dattiloscritte una per pagina e numerate progressivamente con numerazione romana e contraddistinte da una didascalia precisa (in italiano e in inglese) riprodotte con interlinea 2 su figli separati. Si consiglia di compilare le tabelle con un numero di colonne compreso fra 6 e 12. Nel testo della tabella e nella legenda utilizzare, nell'ordine di seguito riportato, i seguenti simboli: *, †, ‡, §, ¶, **, ††, ‡‡ ...
- *Le Figure*, per gli invii per posta, vanno riprodotte in foto. I grafici e i disegni possono essere in fotocopia purché di buona qualità. Le figure devono essere numerate e devono riportare sul retro, su un'apposita etichetta, il nome dell'Autore, il titolo dell'articolo, il verso (alto). Ogni figura dovrà essere corredata da didascalia in italiano e inglese. Gli Autori sono invitati ad inviare le illustrazioni su dischetto, secondo le seguenti norme: salvare le immagini in files separati dal testo e dalle tabelle. È possibile utilizzare dischetti da 31/2", Iomega Zip o CD. Inviare immagini esclusivamente in formato TIFF o EPS, oppure in formato JPEG. Inserire nel nome del file un'estensione che identifichi il formato del file (esempio: .tif; .eps; .jpeg; .ppt).
- *Le domande*: per il numero di domande da allegare si faccia riferimento alla sezione delle norme specifiche per le singole rubriche.

Norme specifiche per le singole rubriche

1. *Editoriali*: sono intesi come brevi considerazioni generali e pratiche su temi d'attualità o di commento ad articoli originali, in lingua italiana o inglese, sollecitati dai Direttori o dai componenti il Comitato di redazione. È omissa il riassunto.

2. *Articoli originali*: comprendono lavori che offrono un contributo nuovo o frutto di una consistente esperienza, anche se non del tutto originale, in un determinato settore. Nell'ottica del carattere educativo della rivista, anche gli articoli originali devono dedicare una parte significativa delle sezioni "Introduzione" e "Discussione" allo stato dell'arte dell'argomento. Devono anche essere allegate 3-5 domande a scelta multipla (ognuna con almeno 3 possibili risposte, e quella corretta evidenziata in grassetto). È prevista la seguente strutturazione: introduzione, materiale e metodi, risultati, discussione e conclusioni. Il testo non dovrebbe superare le 15 pagine dattiloscritte comprese iconografia, bibliografia e riassunto (max. 200 parole). Legenda di tabelle e figure a parte.
3. *Articoli di aggiornamento*: possono anche essere commissionate dai Direttori. Di regola non devono superare le 20 pagine dattiloscritte, comprese tabelle, figure e voci bibliografiche. Legenda di tabelle e figure sono a parte. È omissa il riassunto. Devono essere allegati 3 gruppi di 3-5 domande a scelta multipla (ognuna con almeno 3 possibili risposte, e quella corretta evidenziata in grassetto): il primo gruppo ad 1/3 del manoscritto, il secondo a metà, ed il terzo alla fine.
4. *Articoli finalizzati alla formazione in tema di Evidence-Based Medicine*: in genere vengono commissionati dai Direttori. Sono da allegare 3 gruppi di 3-5 domande a scelta multipla (ognuna con almeno 3 possibili risposte, e quella corretta evidenziata in grassetto): il primo gruppo ad 1/3 del manoscritto, il secondo a metà, ed il terzo alla fine.
5. *Casi clinici*: il caso clinico dovrebbe essere di interesse generale ed illustrare l'applicazione di recenti Linee Guida internazionali al caso in esame tenendo conto delle indicazioni riportate nella letteratura scientifica per quanto attiene diagnosi, prognosi e terapia. Sono desiderabili casi clinici che descrivono le principali difficoltà che si incontrano nella pratica clinica o che hanno come oggetto problemi ancora irrisolti o inusuali nei processi decisionali che riguardano le patologie più comuni. Il caso clinico dovrebbe avere una lunghezza di circa tre pagine. Devono essere allegate 3-5 domande a scelta multipla (ognuna con almeno 3 possibili risposte, e quella corretta evidenziata in grassetto).
6. *Lettere al Direttore*: possono far riferimento anche ad articoli già pubblicati. In questo caso la lettera verrà preventivamente inviata agli Autori dell'articolo e l'eventuale risposta degli stessi pubblicata in contemporanea. La loro estensione non dovrebbe superare le due pagine dattiloscritte, precedute dal titolo.

Promemoria per gli Autori

Lettera di accompagnamento dell'articolo con dichiarazione di originalità e di cessione dei diritti all'editore e, se del caso, che gli Autori sono in possesso del consenso informato dei pazienti alla sperimentazione e/o alla riproduzione delle immagini.

Titolo, parole chiave, riassunto e didascalie in italiano e in inglese.

Invio preferenziale per e-mail all'indirizzo Pacini.Editore@pacineditore.it

Gli **estratti** sono addebitati agli Autori a prezzo di costo. Assegni e vaglia vanno inviati a:

Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva
Pacini Editore S.p.A., via Gherardesca, 56121 Ospedaletto (PI).

Abbonamenti

Il Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva è trimestrale. I prezzi degli abbonamenti annuali per i non Soci sono i seguenti: Italia € 60; estero € 70. Questo fascicolo € 20.

Le richieste di abbonamento e ogni altra corrispondenza relativa agli abbonamenti vanno indirizzate a:

Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva
Pacini Editore S.p.A., via Gherardesca, 56121 Ospedaletto (PI)
Tel. 050 313011 – Fax 050 3130300
abbonamenti@pacineditore.it • <http://www.pacineditore.it>

Finito di stampare presso le Industrie Grafiche della Pacini Editore S.p.A. - Settembre 2005

Informations for authors including editorial standards for the preparation of manuscripts

The *Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva* – *Italian Journal of Sexual and Reproductive Medicine* – is the official journal of the Italian Society of Andrology in the field of Medical Education. It publishes both in Italian and English, contributions in the form of editorials, updates, original articles, Evidence-based Medicine articles, case reports, letters to the Editor.

Each contribution undergoes a double-blind peer-reviewing process and is evaluated on the basis of the most recent Guidelines and International Consensus Conferences.

The eventual acceptance of articles for publication is conditional upon the implementation of any changes requested by reviewers, and the final decision of the Editor.

Authors will be informed about acceptance of the manuscript within 60 days; they will be given 72 hours for proof-correction (only a set of proofs will be sent to Authors): corrections should be reduced to the minimum and must be made directly on the received proofs. A form for reprints order and payment will be sent together with the proofs.

Manuscripts submission

The manuscript to be submitted for publication should be sent by regular mail or E-mail (preferred way) to:

Lucia Castelli, Editorial Office – Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva, Pacini Editore S.p.A., Via Gherardesca 1, 56121 Ospedaletto (PI) (Tel. 050 3130224 - Fax 050 3130300)

E-mail: lcastelli@pacineditore.it

A separate covering letter, signed by every Author, must state that the material submitted has not been previously published, and is not under consideration (in whole or in part) elsewhere, and that it is conform with the regulations currently in force regarding research ethics. If an experiment on humans is described, a statement must be included that the work was performed in accordance with the principles of the 1983 Declaration of Helsinki. The Authors are solely responsible for the statements made in their paper, and must state that they have obtained the informed consent of patients for their participation in the experiments and for the reproduction of photographs. For studies performed on laboratory animals, the authors must state that the relevant national laws or institutional guidelines have been adhered to.

All papers should also include a separate covering letter undersigned by all Authors stating that, if and when the manuscript is accepted for publication, the authors hand over the transferable copyrights of the accepted manuscript to the publisher; and that the manuscript or parts thereof will thus not be published elsewhere, in any language, without the consent of the copyright holder. Copyrights include, without spatial or time limitation, the mechanical, electronic and visual reproduction and distribution; electronic storage and retrieval; and all other forms of electronic publication or any other types of publication including all subsidiary rights.

Conflict of Interests

In the letter accompanying the article, Authors must declare if they got funds, or other forms of personal or institutional financing – or even if they are under contract – from Companies whose products are mentioned in the article. *This declaration will be treated by the Editor as confidential, and will not be sent to the referees.* Accepted works will be published accompanied by a suitable declaration, stating the source and nature of the financing.

The following indications are based on the *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (Br Med J 1988;296:6/2).

Manuscript preparation

The text must be typewritten in either Italian or English. Word 6.0 or following versions are preferred (save files in DOC or .RTF format, 25 lines per page, double line spacing and 2,5 cm margins, font Times 12). Do not use desktop publishing programmes such as Aldus Pagemaker, Quark X-Press or Publisher. Retain from complex formatting.

Picture should be submitted as separate files from text files, on separate diskettes or cartridges. 3 1/2 diskettes, Iomega Zip, and CDs can be submitted. Submit only TIFF, JPEG or PPT files, with a minimum resolution of 300 dpi and 10 x 15 cm format.

Figures in the form of photographs must be provided in 3 original copies, labelled and numbered on the back, with the indication of the Author, of the title of the article and of the top of the picture.

Diskettes/CDs containing texts and/or figures should be labelled with the last name of the first author, an abbreviated title of the manuscript, computer type, word processing programme and version, and file name(s) of the document(s).

A typewritten copy must always be included.

General instructions for Authors

Text must be written in Italian or English. If the text is in Italian, Authors should provide the English translation of:

- title;
- key words;
- an abstract;
- captions and legends for all tables and figures;
- questions and answers for the education section.

No name of Authors or Institutions should appear in the text in order to have a full double-blind peer-reviewing process.

On the *first page* of the manuscript should appear:

- title (in Italian and English);
- full name of Authors;
- institute or organisation to which each author is affiliated;
- a set of key-words (from 3 to 10, conforming to the *Index Medicus* rules);
- the category under which the authors intend the work to be published (although the final decision here rests with the Editor);
- the *name, mailing address, and telephone and fax numbers* of the author to whom correspondence and the galley proofs should be sent.

The *second page* should contain the abstract (concise, less than 250 words) in Italian and English: the abstract must be subdivided into the following sections: Background, Objective(s), Method(s), Results, Conclusion(s). In the Aim section, the aim (or the aims) of the work must be clearly summarised (i.e., the hypothesis the Authors want to verify); in the Method(s) section, the Authors must report the context of the study, the number and the kind of subjects under analysis, the kind of treatment and of statistical analysis used. In the Results section are reported the results of the study and of the statistical analysis. In the Conclusions section is reported the significance of the results with regard to clinical implications.

Authors are asked to use only abbreviations internationally accepted.

The following pages should contain the text written in Italian or English: the text must be subdivided into the following sections: Introduction, Method(s), Results, Discussion.

At the end of the text should appear the *bibliography*, the legends to the tables and figures.

The bibliography must be limited to the most essential and relevant references, identified in the text by Arabic numbers and listed at the end of the manuscript in the order in which they are cited. The format of the

references in the bibliography section should conform with the examples provided in N Engl J Med 1997;336:309-15. The first six Authors must be indicated, followed by et al. Journals should be cited according to the abbreviations reported on Index Medicus.

Examples of the correct format for bibliographic citations:

Journal/articles:

Bisset WM, Watt JB, Rivers RPA, Milla PJ. *Postprandial motor response of the small intestine to enteral feeds in preterm infants*. Arch Dis Child 1989;64:1356-61.

Books:

Smith DW. *Recognizable patterns of human malformation*. Third Edition. Philadelphia: WB Saunders Co. 1982.

Chapters from books or material from conference proceedings:

Milla PJ. *Electrogastrography in childhood: an Overview*. In: Chen JDZ, McCallum RW, eds. *Electrogastrography Principles and Applications*. New York: Raven Press Ltd, 1994:379-96.

- All *units of measurement* should be reported in the metric system in the terms of the International System of Units (SI), reporting in parentheses, if necessary, the same data in conventional units.
 - *Abbreviations* should be avoided unless they are standard units of measurement. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text.
 - *Drugs* should be referred to by their chemical name; the commercial name should be used only when absolutely unavoidable (capitalizing the first letter of the product name).
 - If a figure or a text has been published, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce the material. *Permissions* are required irrespective of authorship or publisher, except for documents in public domain.
 - A statement for *copyright assignment* to the journal will be included in the proofs and must be signed by the Author.
 - *Acknowledgements* and the citation of any grants or other forms of financial support should be provided after the bibliography.
- Notes to the text, indicated by an asterisks or similar symbols, should appear at the bottom of the relevant page.
- *Mathematical terms* and formulae, abbreviations, and units of measure should conform to the standards set out in *Science* 1954;120:1078.
 - *Tables* (in 3 copies) must be limited in number (the same data should not be presented twice, in both the text and tables), typewritten one to a page, and numbered consecutively with Roman numbers. In the text and legend of the tables, Authors must use, in the exact order, the following symbols: *, †, ‡, §, ¶, **, ††, ‡‡ ...
 - *Figures* in the form of photographs must be provided in 3 original copies, labelled and numbered on the back, with the indication of the Author, of the title of the article and of the top of the picture.
 - Please check the section devoted to specific instructions for the number of *questions* to provide.

Specific instructions for the various categories of papers

1. *Editorials* (written on the invitation of the Editor or a member of the Editorial Board) are brief discussions of the general and practical aspects of topics of current interest. They should be written in Italian or English; no abstract is necessary.
2. *Original articles* represent reports of new and original work, or descriptions of a consolidated body of experience (even if not entirely original) in a given field. Due to the educational mission of the journal, original article should devote part of the Introduction and Discussion sections to the state-of-the-art on the subject. 3 multiple-choice questions should be included (each of them with 3 different answers, the right one in bold). The text must be sub-divided into the following sections: Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, and Conclusions. The text must not exceed 15 typewritten pages, pictures, bibliography and summary included (legend of figures and tables apart). The abstract, must be less than 200 words

and must be subdivided into the following sections: *Objective(s), Method(s), Results, Conclusion(s)*.

3. *Update articles* may be submitted for consideration by authors, or may be written on the invitation of the Editor. They should not exceed 20 typewritten pages, including the bibliography, tables, and figures (but not including the legends). No abstract is necessary. 3 groups of 3-5 multiple-choice questions should be included (each of them with 3 different answers, the right one in bold). The first group after 1/3 of the article; the second at the half of the article, the last at the end of the article.
4. *Evidence-based-medicine education articles*: written on the invitation of the Editor or a member of the Editorial Board. 3 groups of 3-5 multiple-choice questions should be included (each of them with 3 different answers, the right one in bold). The first group after 1/3 of the article; the second at the half of the article, the last at the end of the article.
5. *Case reports* will be considered for publication only if they describe very rare cases or are of particular didactic interest. The presentation should include a clear exposition of the case and a discussion of the differential diagnosis. The text must be concise (less than three pages), and furnished with no more than 1 or 2 figures or tables, and with a few essential bibliographic references. 3-5 multiple-choice questions should be included (each of them with 3 different answers, the right one in bold).
7. *Letters to the Editor* may address problems of current interest in the area of andrology, or may comment on articles that have recently appeared in the journal. In the latter case, the letter will be sent to the authors of the article in question and their eventual reply will be published together with the letter. Letters to the editor should be written in Italian, must not exceed 2 typewritten pages, and must be furnished with a title.
8. *Reviews of books*. The journal reserves the right to publish reviews (either unsolicited or written on the invitation of the Editor) of books. The text should be in Italian, and should not exceed 1 to 2 typewritten pages.

Memorandum for Authors

The Authors should send a letter accompanying their article containing a declaration to the effect that the work being submitted is original and that copyright is transferred to the publisher; moreover, if necessary, the Authors should state that informed consent on the part of the patients has been obtained for their participation in the experiments and/or for publication of photographs.

Title, key-words, summary, captions in Italian and English.

Preferably send article by e-mail to pacini.editore@pacinieditore.it

Authors are charged cost price for **off-prints**. Cheques and money orders should be sent to:

**Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva
Pacini Editore S.p.A., via Gherardesca, 56121 Ospedaletto (PI), Italy.**

Subscriptions

The Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva is published every three months. Subscriptions rates for non-members are the following: Italy 60; Abroad 70; Single issue 20
Subscriptions form should be addressed to:

**Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva
Pacini Editore S.p.A., via Gherardesca, 56121 Ospedaletto (PI), Italy – Tel. +39 050 313011 – Fax +39 050 3130300**

Indice

Editoriale

Editorial

È necessaria più andrologia nell'infertilità di coppia?
Is it necessary more andrology in the couple infertility?
E.S. Pescatori, P. Turchi

131

Articoli di aggiornamento

Reviews

Potenziali rischi per i nati dopo procedure di procreazione medicalmente assistita
Potential risks for children born after assisted reproductive technologies
M. Costa, D. Colia

134

Conseguenze cromosomiche e genetiche nei bambini nati con tecnica ICSI
Chromosomal and genetic consequences in children born through ICSI technique
I. Natali

147

Le azoospermie ostruttive: ricanalizzazioni delle vie seminali, recupero chirurgico di spermatozoi e loro utilizzo in cicli ICSI
Surgical treatment methods for obstructive azoospermia and surgical retrieve of spermatozoa for ICSI
G. Beretta

159

Classificazione ed epidemiologia delle disfunzioni sessuali della donna
Classification and epidemiology of women's sexual dysfunction
A. Salonia, A. Gallina, G.V. Fantini, F. Fabbri, F. Montorsi

166

Erezioni correlate al sonno: fisiologia, tecniche di indagine e loro ruolo nella valutazione del paziente con deficit erettivo
Sleep-related erections: physiology, techniques of evaluation and their role in the study of the patient with erectile dysfunction
G. De Mola, A. Sanguanini, V. Rochira, L. Zirilli, C. Carani, A.R.M. Granata

174

La microlitiasi del testicolo: la nostra esperienza alla luce delle attuali conoscenze
Testicular microlithiasis: our experience according to most recent findings
G. Passavanti, V. Pizzuti, E. Spinosa, A. Bragaglia, R. Paolini

184

Anatomia del lavoro scientifico peer reviewed
Anatomy of a peer reviewed research paper
G. Cavallotti

189

Normativa

Legge 19 febbraio 2004, n. 40 "Norme in materia di procreazione medicalmente assistita" pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 45 del 24 febbraio 2004

202

Sezione di autovalutazione

Risposte ai precedenti questionari, vol. 12, n. 2, giugno 2005

208

È necessaria più andrologia nell'infertilità di coppia?

Is it necessary more andrology in the couple infertility?

L'infertilità di coppia sta diventando sempre più un problema maschile e questo dato, emerso nel corso del recente congresso della *European Society for Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) di Copenhagen, suggerisce nuovi scenari sui quali è utile soffermarci per qualche riflessione.

Un dato fino ad oggi accettato da tutti coloro che lavorano nel campo dell'infertilità è che questa sia legata a un fattore femminile nel 40% dei casi, maschile in un altro 40% ed a problemi comuni nel rimanente 20% dei casi. L'*European IVF-monitoring program* (EIM) ha però recentemente segnalato un progressivo aumento del ricorso alla ICSI, tecnica tipicamente utilizzata per la presenza di un fattore maschile. Mentre l'uso della ICSI rappresentava il 43% dei cicli IVF nel 1997, questa percentuale è salita al 52% nel 2001¹. Seppure vi sia una tendenza ad utilizzare sempre di più la ICSI piuttosto che la IVF, anche là dove non sia coinvolto un fattore maschile (nonostante sia noto come le due tecniche abbiano in questi casi la stessa *take-home-baby rate*), è stato segnalato dallo stesso coordinatore dell'*EIM Committee*, Nyboe Anderson, come questo dato testimoni un aumento della rilevanza della componente maschile nell'infertilità di coppia.

Vari fattori sono implicati in questo aumento dei casi di subfertilità maschile, tra cui un declino della qualità seminale dovuta a tossici ambientali e l'incremento dell'età media a cui oggi un uomo ricerca la paternità.

Un apparente paradosso è quindi che benché l'infertilità si dimostri sempre più un problema maschile, sempre più la soluzione proposta è una tecnica che non affronta il problema ma lo trasferisce sulla donna.

In Italia la legge 40, di seguito integralmente riportata, nel suo art. 1, comma 2, consente il ricorso alle metodiche PMA solo "qualora non vi siano altri metodi terapeutici efficaci per rimuovere le cause di sterilità o infertilità". Ancora, nell'articolo 4 la legge consente l'impiego di queste metodiche "qualora sia accertata l'impossibilità di rimuovere altrimenti le cause impeditive della procreazione ed è comunque circoscritto ai casi di sterilità o di infertilità inspiegate documentate da atto medico nonché ai casi di sterilità o di infertilità da causa accertata e certificata da atto medico". Viene altresì ribadito il concetto della gradualità di intervento: coerentemente con la legge, nelle linee guida applicative ai sensi del comma 1 della legge 40, si precisa infatti che

*"la certificazione dello stato di infertilità per l'accesso alle tecniche di riproduzione assistita viene effettuata dagli specialisti del centro (per le patologie femminili il ginecologo; per le patologie maschili l'andrologo o l'urologo con competenze andrologiche) una volta assicurati i criteri diagnostici e di gradualità terapeutica"*².

La legge e le sue linee applicative ribadiscono pertanto la indispensabilità di un percorso diagnostico e terapeutico del maschio infertile, necessario per motivi già noti a molti, ma che è utile sottolineare ancora una volta. Prima di tutto deve essere riconosciuto, all'infertilità maschile, un significato clinico di possibile sintomo sentinella di patologie generali o a carico dell'apparato riproduttivo, potenzialmente gravi, come neoplasie testicolari o ipofisarie, flogosi croniche, patologie genetiche e altro³. In taluni casi, inoltre, la valutazione ed il trattamento del fattore maschile consente l'eliminazione definitiva di alcune cause di infertilità, cosa particolarmente importante nella prospettiva anche di gravidanze successive. La gradualità di intervento deve considerare la possibilità di una cura dell'infertilità maschile, che ha costi per gravidanza più contenuti rispetto alla IVF, riduce i rischi di morbilità femminile, di gravidanze multiple⁴⁻⁷ e riduce i rischi per il nascituro, come ampiamente discusso nelle due review pubblicate su questo numero della rivista.

In realtà un corretto percorso diagnostico terapeutico⁸ è un atteggiamento ancora oggi largamente disatteso a fronte del fatto che, per quanto detto, il non valutare un maschio infertile è scorretto sotto il profilo etico, clinico ed economico.

Ma quale è l'origine di questo apparente paradosso? Uno dei motivi, probabilmente, è il basso livello di evidenza dell'efficacia delle terapie disponibili per l'infertilità maschile. Se prescindiamo infatti dal trattamento dell'infertilità da cause ostruttive (vasali o dei dotti eiaculatori) o da ipogonadismo ipogonadotropo, le evidenze scientifiche dell'utilità dell'intervento andrologico sono limitate⁹⁻¹⁰. È peraltro doveroso integrare questa affermazione con la considerazione che gli studi metodologicamente corretti sulle applicazioni cliniche delle terapie per l'infertilità maschile rappresentano purtroppo una minoranza. I pochi trial esistenti sono frequentemente inficiati dalla mancanza di una adeguata selezione dei pazienti, che troppo spesso vengono classificati nell'unica categoria degli "infertili" o come appar-

tenenti a categorie seminali (oligozoospermici, astenozoospermici, etc.) indipendentemente dalla patogenesi. La stessa recente metanalisi di Evers e Collins¹¹ che negherebbe l'efficacia del trattamento del varicocele ai fini del miglioramento della fertilità, non è scevra da possibili critiche, come già discusso su questa rivista¹².

Svariate sono le linee di ricerca sull'efficacia delle terapie dell'infertilità maschile. Ci piace citare tra esse l'ipotesi che il trattamento con FSH possa migliorare la qualità della spermatogenesi, intesa come struttura e funzionalità gametica, in pazienti infertili selezionati per caratteristiche ultrastrutturali degli spermatozoi¹³ o in base ai risultati della biopsia testicolare o del citologico all'agoaspirato¹⁴. Il trattamento maschile con FSH prima della ICSI si è dimostrato inoltre in grado di migliorare anche l'*implantation rate*, verosimilmente per un miglioramento della qualità embrionale¹⁵. È stato naturalmente sottolineato come sia indispensabile condurre studi controllati prospettici che utilizzino tali criteri di corretta selezione dei pazienti¹⁶.

Ricordiamo infine come l'ONU, definendo la salute riproduttiva come "*uno stato di completo benessere fisico, mentale e sociale e non semplicemente come l'assenza di patologia o infermità in tutte le situazioni correlate al sistema riproduttivo ed al suo funzionamento*", di fatto riconosca l'infertilità come una patologia e, pertanto, sottolinei come anch'essa sia meritevole di adeguato iter diagnostico e terapeutico¹⁷.

La conclusione di queste riflessioni consiste nel raccomandare una maggiore attenzione per l'infertilità maschile e una più efficace collaborazione tra ginecologo e andrologo nel corretto inquadramento diagnostico della coppia infertile.

Anche noi sentiamo, come sottolineato da Anne Jequier in una recente *review*, il bisogno di aumentare la preparazione degli specialisti coinvolti nella gestione dell'infertilità maschile, con specifici training che consentano un'adeguata interazione dell'andrologo, non sempre sufficientemente aggiornato sui più corretti percorsi diagnostico terapeutici, con i centri di PMA. Vi sono molti presupposti per cui si debba spingere per andare in questa direzione. Non solo verrà in questo modo rispettata una legge e applicato il criterio deontologico del ricercare le cause di un sintomo, ma verranno probabilmente offerte possibilità di risoluzione di una parte dei problemi alla base dell'infertilità o, in certi casi, verranno offerte possibilità di accesso a metodiche PMA di livello inferiore, con le stesse possibilità di concepimento.

Sarà inoltre necessario investire risorse per la realizzazione di studi clinici adeguati a studiare come meglio definire le categorie diagnostiche dell'infertilità maschile e a dimostrare la reale efficacia delle terapie disponibili.

Edoardo S. Pescatori, Paolo Turchi
Direttori Scientifici / Editors in Chief

Bibliografia

- 1 Assisted reproductive technology in Europe, 2001. Results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod 2005;20:1158-76.
- 2 Linee guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana Serie Generale n. 191, 16-8-2004, pag 7.
- 3 Honig SC, Lipshulz LI, Jarow J. Significant medical pathology uncovered by a comprehensive male infertility evaluation. Fertil Steril 1994;5:1028-34.
- 4 Collins J. Cost-effectiveness of in vitro fertilization. Semin Reprod Med 2001;19:279-8.
- 5 Callahan TL, Hall JE, Ettner SL, Christiansen CL, Greene MF, Crowley WF. The economic impact of multiple-gestation pregnancies and the contribution of assisted-reproduction techniques to their incidence. N Engl J Med 1994;331:244-9.
- 6 Van Voorhis BJ, Syrop CH. Cost-effective treatment for the couple with infertility. Clin Obstet Gynecol 2000;43:958-73.
- 7 Schlegel PN. Is assisted reproduction the optimal treatment for varicocele-associated male infertility? A cost-effectiveness analysis. Urology 1997;49:83-90.
- 8 World Health Organization. WHO Manual for the Standardized Investigation, Diagnosis and Management of the Infertile Male. Cambridge: Cambridge University Press 2000.
- 9 Clinical Guidelines of Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. Primo approccio diagnostico e trattamento iniziale dell'infertilità di coppia. In: De Stefano C, ed. *Momento Medico*. Salerno 2001.
- 10 Assessment and treatment for people with fertility problems: understanding NICE guidance. www.nice.org.uk.
- 11 Evers JLH, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: a systematic review. Lancet 2003;361:1849-52.
- 12 Maio G. Varicocele ed infertilità maschile: fisiopatologia ed indicazioni terapeutiche nell'era della procreazione assistita. GIMSeR 2005;12:37-50.
- 13 Baccetti B, Piomboni P, Bruni E, Capitani S, Gambera L, Moretto E, et al. Effect of follicle-stimulating hormone on sperm quality and pregnancy rate. Asian J Androl 2004;6:133-4.
- 14 Foresta C, Bettella A, Garolla A, Ambrosini G, Ferlin A.

Treatment of male idiopathic infertility with recombinant human follicle-stimulating hormone: a prospective, controlled randomized clinical study. Fertil Steril 2005;84:654-61.

- ¹⁵ Ashkenazi J, Bar-Hava I, Farhi J, Levy T, Feldberg D, Orvieto R, et al. *The role of purified follicle stimulating hormone therapy in the male partner before intracytoplasmic sperm injection.* Fertil Steril 1999;72:670-3.
- ¹⁶ Liu PY, Handelsman DJ. *The present and future state of hormonal treatment for male infertility.* Hum Reprod Update 2003;9:9-23.
- ¹⁷ United Nations. *Reproductive Rights and Reproductive Health: a concise report.* New York: United Nations 1996;E.96.XIII.11.
- ¹⁸ Jequier AM. *Clinical andrology-still a major problem in the treatment of infertility.* Hum Reprod 2004;19:1245-9.

Potenziati rischi per i nati dopo procedure di procreazione medicalmente assistita

Potential risks for children born after assisted reproductive technologies

M. COSTA, D. COLIA

Struttura Semplice Medicina della Procreazione, E.O. Ospedali "Galliera", Genova

Parole chiave: Procreazione medicalmente assistita, Fecondazione *in vitro*, ICSI, Difetti congeniti, Malformazioni congenite, Anomalie congenite

Key words: *Assisted reproductive technologies, In vitro fertilization, Intracytoplasmic sperm injection, Congenital defects, Birth defects, Congenital malformations, Congenital anomalies*

Riassunto

È stata condotta una revisione delle pubblicazioni riguardanti i rischi perinatali e malformativi dei nati da tecniche di riproduzione assistita. Non sono stati presi in considerazione i dati riguardanti i rischi genetici. Allo stato attuale delle conoscenze il rischio di complicanze perinatali e malformative è più alto nelle gravidanze ottenute con procreazione assistita rispetto a quello delle gravidanze spontanee. L'alto numero di gravidanze multiple contribuisce in modo importante a questo aumento, che, però, è rilevabile anche nelle gravidanze singole. La tecnica impiegata e l'origine degli spermatozoi utilizzati non sembrano cambiare il rischio malformativo. La crescita e lo sviluppo psicoaffettivo dei bimbi non sembrano influenzate dalle tecniche di procreazione medicalmente assistita. La maggior parte dei ricercatori ipotizza che la infertilità stessa sia il più importante fattore di rischio per queste complicanze. Purtroppo non esistono studi sufficientemente grandi che confrontino l'esito delle gravidanze spontanee nelle sole coppie infertili con l'esito delle gravidanze dopo procreazione assistita. Sono quindi necessari studi di follow-up con grande numerosità del campione, protratti fino all'età adulta.

Summary

A review of relevant publications concerning perinatal risks and the risk of malformations in children conceived with assisted reproductive techniques has been conducted. Genetic risks have not been taken in account.

According to the state of art, perinatal complications and malformation risks result higher in pregnancies achieved with ART when compared to spontaneous. The considerable amount of multiple pregnancies also contributes to increased statistics, still increased risk is registered in the single ones. Used techniques and sperm origin do not seem to impact on perinatal risks and malformation rates.

Individual growth and psycho-affective attitude of children do not appear to be affected by the ART.

Portion of scientists speculate that infertility could be a major factor for such a kind of complication. Unfortunately, at the present time, studies which compare the outcome of spontaneous pregnancies in infertile couples with outcomes followed to ART cycles are scarce.

Further studies of wider sampling are recommended to be accomplished also by prolonging the monitored age of the selected cohort individual.

Introduzione

Sono stati necessari più di 10 anni per riuscire a raccogliere dati affidabili e quantitativamente sufficienti sugli effetti delle tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA) sulla prole. Oggi possiamo intravedere alcune conclusioni sufficientemente robuste ed affermare che i nati da queste tecniche hanno di fatto un lie-

ve aumento del rischio di varie complicazioni ostetriche e malformative ma, nel frattempo, resta da dare una risposta cruciale su quanto di ciò che abbiamo verificato sia dovuto alla tecnica applicata e quanto alla patologia che sta dietro i casi di infertilità di coppia. Per motivi di chiarezza espositiva analizzeremo separatamente i vari tipi di problemi, cominciando dai dati sui neonati, cercando di evidenziare eventuali peculiari conseguenze

dei trattamenti eseguiti per l'indicazione di una sterilità maschile e torneremo successivamente sulla eziologia dei problemi. Non tratteremo le anomalie genetiche nella prole dopo PMA in questa review, essendo esse oggetto di altro articolo su questo stesso numero della rivista.

Complicanze ostetriche ed outcome gestazionale

Nel 2000 negli USA il tasso di aborti risultò sovrapponibile nelle gravidanze da FIVET (17,6%) e ICSI (16,7%)¹. Nel 2003 furono studiati gli esiti di 62.228 gravidanze concepite con PMA negli Stati Uniti. L'utilizzo della ICSI non risultò complessivamente associato a un eccesso di aborti. La *abortion rate* dopo ICSI risultò del 14,5%, che è analogo al rate complessivo di aborto delle gravidanze da PMA ed è simile al tasso di abortività delle gravidanze concepite spontaneamente riportato dal *National Survey of Family Growth*². È possibile che la tendenza a un maggior tasso di abortività nelle pazienti che hanno praticato ICSI con spermatozoi testicolari, verificata inizialmente da vari gruppi di ricerca, non modifichi i risultati complessivi in modo significativo a causa della bassa percentuale di questi casi rispetto al totale delle ICSI praticate sia per fattore maschile meno grave che per altri motivi.

In uno studio su ampia casistica³, 42.463 nati con tecniche di PMA sono stati confrontati con 3.389.098 bambini nati negli USA nel 1997. Questo studio ha evidenziato che nell'insieme delle gravidanze (singole e multiple) ottenute con la PMA il rischio di basso peso alla nascita (< 2,5 g) nei neonati a termine è 2,6 volte superiore ai controlli, e si mantiene significativo anche aggiustando l'analisi sulla base dell'età materna, della parità e delle settimane di gestazione. Analizzando le gravidanze singole la differenza di rischio di basso peso alla nascita viene confermata, mentre si perde solo nel gruppo delle madri surrogate, suggerendo, sebbene su pochi casi, che la gestante abbia sul peso del feto a termine un impatto superiore alla tecnica utilizzata.

Dhont ha studiato le sole gravidanze singole (3.057 singole) dopo PMA confrontate con singole concepite spontaneamente⁴. Gli Odds ratios per le varie complicanze furono i seguenti: 2,6 (95% IC 1,4-4,8) per mortalità perinatale; 3,5 (95% IC 2,2-5,7) per parto prima della 33^o settimana; 1,7 (95% IC 1,5-1,9) per taglio cesareo. I risultati delle gravidanze gemellari erano sovrapponibili a quelli dei controlli, ad ec-

cezione del tasso di tagli cesarei (odds ratio, 1,4; 95% IC, 1,2-1,7).

Uno studio retrospettivo danese sulle sole gravidanze gemellari su 3.438 gemelli nati da IVF/ICSI e 10.362 gemelli nati da gravidanza spontanea conclude che, malgrado la più alta frequenza di ricoveri in unità di terapia intensiva ed una maggiore incidenza di discordanza nel peso dei due gemelli, l'outcome neonatale dei due gruppi è comparabile, se si escludono i gemelli monozigoti⁵. Questa ricerca evidenzia, per la prima volta, un dato di estremo interesse. Alcune delle gravidanze singole dopo PMA sono in realtà in partenza gemellari in cui molto precocemente uno dei gemelli cessa di svilupparsi e scompare ("*vanishing twin*"). Il feto che sopravvive sembra avere una maggior probabilità di parto pretermine, basso peso alla nascita e paralisi cerebrale rispetto a quelli che sono singoli dall'inizio⁶. Questo potrebbe spiegare, almeno in parte, la maggior incidenza di tali problemi nelle gravidanze singole da PMA e sottolinea il fatto che potrebbe essere un bias non considerare i *vanishing twins* nei confronti effettuati sui neonati.

Malgrado le preoccupazioni sull'effetto potenzialmente negativo della ICSI, in realtà il risultato finale non sembra influenzato dalla tecnica stessa^{3,7}. Anche nella casistica del gruppo di Bruxelles su 2.889 ICSI e 2.995 FIVET l'incidenza di prematurità, basso peso alla nascita, morti intrauterine del feto, oltre che delle malformazioni sono analoghe nei due gruppi⁸. In Germania è stato effettuato uno studio multicentrico prospettico controllato di coorte su 3.372 gravidanze ottenute esclusivamente da ICSI con spermatozoi eiaculati, epididimari e testicolari⁹ in cui si riporta un aumento di molte complicanze gravidiche nelle gravidanze da ICSI (metrorragie, placenta previa, oligoidramnios, insufficienza placentare, minaccia di parto pretermine, distacco di placenta, anemia materna, ipertensione e preeclampsia, parto pretermine). A differenza dello studio americano della Schieve, lo studio multicentrico tedesco trova che la differente incidenza di neonati con peso alla nascita inferiore a 2,5 kg o a 1,5 kg (*low birth weight rate* 10,9% vs. 5,3%, *very low birth weight* 3,2% vs. 1,1%) è dovuta esclusivamente ad una minore età gestazionale al parto nel gruppo ICSI, mentre, dopo aggiustamento per l'età gestazionale, non ci sono differenze clinicamente rilevanti nel peso alla nascita, né si dimostra la discordanza di peso tra i gemelli trovata da altri Autori in precedenza.

In una precedente parziale pubblicazione degli stessi dati non è stata rilevata nessuna influenza della origine spermatica sull'andamento della gravidanza e delle

sue complicazioni, compresa la pre-eclampsia¹⁰. Con le limitazioni dovute alla bassa numerosità di alcuni sottogruppi ed al fatto che le gravidanze erano arruolate tardivamente per il follow-up, per cui non sono stati studiati gli aborti precoci e le gravidanze ectopiche, gli Autori concludono che il corso della gravidanza non è influenzato né dall'origine degli spermatozoi né dal loro numero. In uno studio dello stesso anno si è confrontato l'outcome gestazionale di gravidanze ottenute con spermatozoi testicolari in azoospermie non ostruttive (NOA) ed ostruttive (OA)¹¹. I dati dimostrano una maggiore tendenza alla prematurità nelle gravidanze singole (24% vs. 13%) ed una incidenza significativamente maggiore di prematurità nelle gravidanze gemellari (86% vs. 54%) nel gruppo delle azoospermie non ostruttive (NOA) rispetto alle ostruttive (OA). Questi dati dimostrano che sono necessari studi multicentrici per approfondire il problema.

I lavori rilevanti degli anni più recenti sono stati oggetto di una meta-analisi di 25 studi riguardanti esclusivamente le gravidanze singole e di una revisione sistematica di 25 studi^{12,13}. Entrambe hanno confermato l'aumento nei nati da gravidanze singole dopo PMA del rischio di: mortalità perinatale, parto pretermine (≤ 37 settimane), parto gravemente pretermine (≤ 32 settimane), basso peso alla nascita ($\leq 2,5$ kg), peso molto basso alla nascita ($\leq 1,5$ kg), SGA (*small for gestational age*), ricorso al taglio cesareo e ricovero in unità di terapia intensiva neonatale. Il rischio non è diverso per pazienti che si sottopongono a IC-SI o FIVET. Nelle gravidanze gemellari i rischi appaiono sostanzialmente sovrapponibili o di poco aumentati, se non addirittura diminuiti per alcune pato-

logie rispetto alle gravidanze spontanee (Helmerhorst segnala una diminuzione del 40% della mortalità perinatale) (Tab. I).

Gravidanze multiple

La principale problematica legata alle terapie della infertilità è l'aumento delle gravidanze multiple che sono associate a un ampio spettro di rischi ben conosciuti sia per la madre che per i feti.

I rischi materni riguardano tutta la patologia ostetrica: abortività, ipertensione, tromboembolie, diabete, distacco di placenta, e aumentano proporzionalmente al numero di feti. Nel 1994 in Europa è stato riportato un tasso di mortalità materna del 14,9 su 100.000 gravidanze multiple rispetto al 5,2 per 100.000 gravidanze singole. I tassi di mortalità perinatale delle gravidanze multiple sono 5,3 volte più alti delle singole. I tassi di prematurità negli USA sono 10,4% per le singole, 57,4% per le bigemine, 92,7% per le trigemine e oltre. Analogamente il 6% dei neonati singoli sono sottopeso, contro il 54% dei nati da bigemina e il 94% dei nati da trigemina¹⁴.

I rischi perinatali delle gravidanze multiple sono strettamente legati alla maggiore incidenza di basso peso alla nascita e di parto prematuro. Fortunatamente, nelle gravidanze multiple da induzione dell'ovulazione e da FIVET/ICSI, l'incidenza di gravidanze monocoriali, che sono notoriamente associate a un peggior outcome perinatale, è più bassa che nelle multiple spontanee (3,7% vs. 30%).

Negli Stati Uniti, si calcola che, dal 1980 al 2001

Tab. I. Rischi perinatali. *Perinatal risks.*

Patologia	Jackson et al. ¹²	Helmerhorst ¹³	
	Metanalisi di 25 studi 12.283 nati da PMA 1,9 milioni nati da concepimento spontaneo gravidanze singole OR e IC al 95%	Revisione sistematica di 25 studi di cui si riportano i risultati dei 17 controllati con campioni appaiati gravidanze singole da PMA n. 5361 RR e IC al 95%	gravidanze gemellari da PMA n. 3437
Mortalità perinatale	2,2 (1,6-3)	1,68 (1,11-2,55)	0,58 (0,44-0,77)
Parto pretermine (< 37 settimane)	2 (1,7-2,2)	2,04 (1,8-2,32)	1,07 (1,02-1,13)
Parto pretermine (< 32 settimane)	–	3,27 (2,03-5,28)	0,95 (0,78-1,15)
Peso alla nascita (< 2500 g)	1,8 (1,4-2,2)	1,7 (1,50-1,92)	1,03 (0,99-1,08)
Peso alla nascita (< 1500 g)	2,7 (2,3-3,1)	3 (2,37-4,36)	0,89 (0,74-1,07)
Taglio cesareo	2,13 (1,72-2,63)	1,54 (1,44-1,66)	1,21 (1,01-1,32)
Ricovero in terapia intensiva neonatale	1,6 (1,30-1,96)	1,27 (1,16-1,40)	1,05 (1,01-1,09)
<i>Small for gestational age</i>	1,6 (1,25-2,04)	1,4 (1,15-1,71)	1,27 (0,97-1,65)

l'incidenza dei parti gemellari sia aumentata del 59% e quella dei parti trigemini o di ordine superiore sia aumentata del 401%¹⁵.

Il contributo delle tecniche FIVET/ICSI all'incidenza di questa complicanza è ben conosciuto. Secondo il Registro Europeo¹⁶ in Italia nel 2000 le gravidanze ottenute con tecniche di RA sono esitate nel 21,7% di parti gemellari e nel 3,4% di parti trigemini. Tuttavia si stima che almeno 1/3 dei parti gemellari e la maggior parte dei parti trigemini sia da attribuirsi a semplici induzioni dell'ovulazione o a Inseminazioni intrauterine.

Oggi, quasi ovunque, il numero massimo di embrioni trasferibili in un ciclo è di tre; in genere se le pazienti sono giovani e le chances di successo migliori è indicato trasferire 2 embrioni. Alcuni gruppi hanno iniziato a valutare i risultati del trasferimento embrionario singolo ma questo approccio per ora è limitato perché necessita di Laboratori di qualità molto elevata¹⁷. In Inghilterra, proprio per ridurre l'incidenza delle gravidanze multiple, sono state recentemente riviste le linee guida dell'organismo deputato al controllo delle attività di riproduzione assistita, l'HEFA (*Human Fertilization and Embriology Act*). Attualmente, secondo queste linee guida non si possono trasferire più di due embrioni.

Malformazioni congenite ed anomalie genetiche

Le tecniche di procreazione medicalmente assistita ed i pazienti su cui vengono applicate presentano alcune peculiarità che hanno giustificato una maggiore attenzione nello studio delle anomalie congenite dei nati dopo la loro applicazione:

1. peculiari caratteristiche genetiche dei partners;
2. esposizione degli ovociti a livelli sopra fisiologici di ormoni ipofisari;
3. esposizione dei gameti alle tecniche di recupero e preparazione;
4. selezione dei gameti (in caso di ICSI iniezione forzata negli ovociti di spermatozoi di bassa qualità, talvolta immaturi, scelti tra quelli vitali, anziché selezionati dai meccanismi naturali);
5. manipolazione dei gameti (biopsia globulo polare, ICSI);
6. coltura *in vitro* di gameti ed embrioni;
7. manipolazione degli embrioni (PGD, *Assisted hatching*);
8. esposizione degli embrioni alla temperatura ambiente al momento del transfer;

9. trasferimento degli embrioni in un endometrio asincrono rispetto alla loro maturità;

10. effetti negativi del congelamento su gameti (soprattutto ovociti) ed embrioni.

Tutti questi fattori potrebbero in vario modo danneggiare lo sviluppo embrionario e ripercuotersi poi sulla costituzione del neonato.

In via preliminare bisogna esplicitare subito alcuni problemi che si pongono ai ricercatori quando cercano di studiare l'incidenza delle malformazioni in un gruppo di pazienti rispetto alla popolazione generale:

1. come dimostrò Kennedy nel lontano 1967 è difficile stabilire quale è l'incidenza vera delle malformazioni nella popolazione; in effetti egli trovò che era dello 0,83% nei certificati di nascita, dell'1,26% nelle cartelle cliniche e del 5% secondo la valutazione dei pediatri. Quindi non sappiamo quanto sia plausibile l'utilizzo dei registri per avere un gruppo di controllo;
2. la natura retrospettiva della maggior parte degli studi è un forte fattore limitante l'affidabilità dei risultati, per i bias connaturati a questo disegno sperimentale. Spesso vengono utilizzate coorti di controllo storiche, in cui la raccolta dei dati è stata fatta con modalità diverse da quelle della coorte in studio, o con uso di diverse definizioni di malformazione;
3. l'utilizzo della diagnosi prenatale e della diagnostica morfologica ecografica, con eventuali interruzioni terapeutiche della gravidanza, potrebbe falsare i risultati alla nascita, soprattutto se il gruppo di pazienti che effettuano tecniche di PMA utilizzasse queste possibilità diagnostiche in più alta percentuale oppure, con effetto opposto, fosse più riluttante ad interrompere una gravidanza ottenuta con grande difficoltà;
4. la gemellarità è più elevata nelle gravidanze indotte nelle coppie infertili ed è, di per sé, uno dei principali fattori di rischio per le malformazioni (1,9% nelle gravidanze singole, 4,8% nelle bigemine, 6,7% nelle trigemine)¹⁸;
5. alcuni fattori di rischio per l'infertilità sono anche fattori di rischio per malformazioni congenite (età avanzata, fumo, esposizione a fattori tossici ambientali e professionali, dismetabolismi, endocrinopatie etc.);
6. nel caso di malformazioni rare un aumento della incidenza statisticamente significativo è dimostrabile solo su campioni molto grandi;
7. esiste un bias ovvio nel fatto che i bimbi nati da PMA sono certamente esaminati con più attenzione (ad esempio negli studi del gruppo di Bruxelles

viene effettuato un ecocardiogramma alla nascita) e l'esame è eseguito da un medico che è informato sul fatto che il neonato è stato concepito con PMA;

8. nei diversi paesi esistono diversi criteri classificativi, soprattutto rispetto alla definizione di malformazioni "minori" e "maggiori";
9. la potenza degli studi effettuati non è spesso sufficiente per raggiungere la significatività statistica nelle differenze trovate. Per esempio, se nel gruppo in studio il rischio relativo di malformazione fosse 1,2 rispetto ai nati da concepimento spontaneo e la prevalenza della malformazione fosse dell'1% nella popolazione, sarebbe necessario avere un gruppo di studio di almeno 26.176 neonati da tecniche di riproduzione assistita perché la differenza fosse significativa.

Ciò premesso esiste un largo numero di studi che si sono occupati dell'incidenza di malformazioni nei nati da PMA e ripercorreremo la loro evoluzione storica recente.

Per quanto riguarda la FIVET (in alcune pubblicazioni erano compresi anche casi di ICSI) i lavori pubblicati tra il 1986 ed il 2002 riportavano frequenze di malformazioni tra lo 0,8% ed il 9%, con un valore modale intorno al 3%. In particolare uno studio controllato danese¹⁹ descriveva il 4,8% di malformazioni nei nati da PMA, il 4,6% nei controlli, mentre il registro nazionale danese riportava una incidenza del 2,8%. Gli Autori attribuivano la differenza all'alto numero di gravidanze multiple nei casi studiati.

In Svezia, utilizzando come controllo il registro nazionale delle malformazioni, è stato descritto un lieve aumento delle malformazioni dopo FIVET (5,4% vs. 3,8% nei controlli), che correlava con età, parità, prematurità e gemellarità²⁰. Le uniche malformazioni aumentate minimamente in modo indipendente dai precedenti fattori di rischio erano le anomalie del tubo neurale e quelle del canale alimentare, oltre alla ipospadia nelle sole ICSI, dato presente in un altro lavoro svedese²¹.

In Olanda il lieve aumento rilevato si era dimostrato correlato ai fattori di rischio presenti nella popolazione infertile e non alla tecnica utilizzata²².

In Finlandia era stato descritto un lieve aumento delle malformazioni cardiache²³. Dai dati del Belgio⁸ emergeva che il rischio era analogo per casi che si erano sottoposti rispettivamente a FIVET ed ICSI (3,8% vs. 3,4%).

Per quanto riguarda le malformazioni dopo ICSI, nelle undici pubblicazioni recensite da Retzlöff e Hornstein nel 2003²⁴ esistevano incidenze variabili dallo 0,7 al 9,1%. È interessante notare come i dati

pubblicati siano rimasti sostanzialmente tranquillizzanti fino al 2002, fatta eccezione per la diversa interpretazione dei dati belgi da parte di esperti di un gruppo australiano, con relativa reinterpretazione dei propri dati da parte dei belgi; la saga si concludeva quindi con la conferma di bassi rischi malformativi, come riassunto nella stessa review.

La svolta avviene nel 2002 con la pubblicazione di uno studio australiano²⁵, che riporta le seguenti percentuali di malformazioni maggiori nei neonati: 26 su 305 ICSI (8,6%), 75 su 837 FIVET (9%), 168 su 4.000 concepiti naturalmente (4,2%); la differenza era significativa per $p < 0,001$ tra entrambe le tecniche ed il concepimento spontaneo. Rispetto ai concepiti naturalmente l'odds ratio per un difetto congenito maggiore ad un anno di età, aggiustato per età, parità, sesso del neonato, e correlazione tra fratelli è di 2,0 (IC 95% 1,3-3,2) per i nati da ICSI e 2,0 (IC 95% 1,5-2,9) per i nati da FIVET. Gli Autori concludono che i nati da PMA hanno maggior probabilità di presentare malformazioni maggiori, anomalie cromosomiche e difetti muscolo scheletrici.

Un grande studio condotto in Danimarca su 442.349 neonati da gravidanza spontanea e 6.052 nati da PMA²⁶ non ha invece trovato aumento di malformazioni congenite, né di patologie mentali e tumori dell'infanzia, compresi i retinoblastomi.

Nel recentissimo studio multicentrico di Bruxelles, Goteborg e New York²⁷, il cui end point primario era lo studio della crescita dei nati da ICSI rispetto ai nati da concepimento naturale, la percentuale di malformazioni maggiori è stata del 3% nei controlli e del 6,3% nel gruppo ICSI. La differenza dai controlli è statisticamente significativa per tutti i casi nel loro complesso. La percentuale di malformazioni nelle sole ICSI eseguite per fattore maschile è del 5,6%, valore non sufficiente per definire una differenza statisticamente significativa rispetto ai controlli. In uno studio di coorte eseguito in cinque paesi europei²⁸ vengono confrontati 540 nati da ICSI, 538 controlli appaiati e 437 nati da FIVET. Il rischio relativo di malformazioni è rispettivamente di 2,77 nelle ICSI (IC 95% 1,41-5,46) e 1,8 nelle FIVET (IC 95% 0,85-3,81). Un dato addizionale importante è che i nati da PMA hanno un rischio aumentato di patologie significative nell'infanzia, interventi chirurgici, necessità di terapie mediche e di ricovero ospedaliero.

Un dato interessante che emerge da una attenta lettura del primo dei due lavori appena citati²⁷ è che la differenza nell'incidenza di malformazioni è presente a Bruxelles, ove i controlli erano bimbi di pari età reclutati nelle scuole, e a New York, ove i controlli

erano reclutati con una inserzione pubblicitaria, mentre l'incidenza è analoga nei due gruppi a Göteborg, il cui gruppo di controllo era stato preso dai registri nascita e seguito con controlli pediatrici successivi previsti per tutti i bimbi in Svezia. La volontà di partecipare allo studio era stata altissima in Svezia e molto minore negli altri due centri. I dati svedesi sono sicuramente più protetti dal rischio di bias di selezione e partecipazione e la differenza nei risultati dei tre centri fa riflettere su quanto siano discutibili i risultati ottenuti da studi con controlli storici o peggio con controlli volontari.

Una parziale soluzione a questo problema poteva venire da studi prospettici controllati, in cui il gruppo di casi e di controllo venissero esaminati allo stesso modo, possibilmente dalla stessa équipe.

Nel già citato studio multicentrico prospettico controllato di coorte condotto in Germania è stata calcolata la percentuale di malformazioni su tutte le seguenti categorie: nati vivi, casi di morte endouterina, aborti spontanei e indotti, a partire dalla 16ª settimana di gravidanza in concepiti da ICSI o naturalmente. Le malformazioni rilevate sono 295 su 3.372 casi per la ICSI (8,7%) e 488 su 8.016 per la coorte di controllo (6,1%), con un rischio relativo di 1,44 (IC al 95% 1,25-1,65). Le anomalie sono più frequenti a carico del cuore, dell'apparato digerente e urinario; anche le anomalie cromosomiche sono aumentate. Vi sono differenze tra casi e controlli in parecchi fattori di rischio sociodemografici ed anamnestici, che portano il gruppo ICSI ad avere di per sé un rischio malformativo elevato. Dopo aggiustamento per i fattori di rischio ricavati da una analisi univariata (età materna, malformazioni nei genitori, storia di precedente morte endouterina o neonato affetto da malformazione maggiore) il rischio relativo diminuisce a 1,24 (IC al 95% 1,02-1,50), ed il rischio di anomalie cromosomiche non risultò più significativamente diverso⁹. È di notevole interesse il fatto che nel gruppo di controllo di questo studio la percentuale di malformazioni fosse del 6,1%, il che dimostra che il tasso reale di malformazioni nella popolazione è probabilmente più alto di quanto abitualmente accettato, essendo fortemente influenzato dalla modalità di rilievo delle stesse anomalie. In una precedente valutazione della stessa casistica l'origine degli spermatozoi (eiaculati, epididimari, testicolari) non influenzava il tasso di malformazioni maggiori¹⁰.

Un nuovo lavoro prospettico del gruppo svedese²⁹ su 16.280 nati da PMA, di cui 30% da ICSI, confrontati con i nati in Svezia nello stesso periodo, conferma un aumento del 42% del rischio malformativo, corre-

lato prevalentemente alle caratteristiche parentali ed in molti casi alla gemellarità, con una incidenza dell'8% di malformazioni congenite e del 5% di patologie relativamente severe. Nello specifico il rischio è aumentato in particolare per i difetti del tubo neurale, l'atresia delle coane, l'atresia di tratti del canale alimentare. Non sono evidenti differenze dovute alla tecnica utilizzata ad eccezione di un aumento della ipospadia nei casi di ICSI.

Un'analisi sistematica condotta da un pannello di esperti statunitensi nel 2004 su 2.444 articoli pubblicati, di cui 169 eligibili per entrare nella review, ha concluso che non è provata la associazione tra PMA e malformazioni gravi³⁰ ma negli ultimi 18 mesi sono state pubblicate due meta-analisi sul tema delle malformazioni da PMA, che hanno rovesciato molte convinzioni. Hansen et al.³¹ hanno raccolto le pubblicazioni fino a marzo 2003 e Rimm et al.³² fino a settembre 2003. La meta-analisi di Hansen su 25 studi mostra un aumento del 30% dell'incidenza di malformazioni. La meta-analisi di Rimm et al. conclude dichiarando un odds ratio per malformazioni di 1,29 (IC 95% 1,01-1,67) per i nati da PMA rispetto ai concepiti naturalmente e non trova significative differenze tra FIVET e ICSI. Su questo ultimo tema esiste uno studio dedicato di un gruppo belga, che non ha evidenziato differenze di rischio tra le due tecniche³³. È stata poi compiuta una apposita meta-analisi dei quattro lavori prospettici che confrontavano ICSI e FIVET³⁴. Nel complesso sono stati inclusi 13.086 nati da FIVET e 5.395 nati da ICSI e si è confermata la assenza di differenze tra le due tecniche per il rischio malformativo.

Le Tabelle II, III e IV riassumono i principali dati delle pubblicazioni sopra citate.

Alterazioni dell'imprinting

I geni sottoposti ad imprinting esibiscono un pattern di espressione specifico per il genitore di origine. Essi giocano un ruolo nello sviluppo embrionario e nello sviluppo comportamentale e sono coinvolti nella cancerogenesi³⁵. Difetti molecolari di questi geni sono stati descritti in particolari rare sindromi genetiche come la sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS) e la Sindrome di Angelman la cui incidenza è stata trovata superiore nei nati da PMA.

La sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS) (iperaccrescimento somatico e predisposizione a tumori embrionali pediatrici, con incidenza stimata da 1/15.000 a 1,3/100.000) risulta aumentata di 3-6 vol-

Tab. II. Sinossi dei dati delle principali pubblicazioni sul rischio malformativo. Synopsis of data from relevant publications concerning risk of malformations.

I Autore (n. bibl)	Nazione	Disegno	Fonte controlli	Tecnica	N. Nati PMA % malfor	N. Controlli % malfor	OR (95% IC)
Westergard 1999 ¹⁴	Danimarca	retrosp. coorte	registro nazionale	IVF- ICSI	2.245 4,8	2.245 4,6	1,04 (0,78-1,39)
Ericson 2001 ²⁰	Svezia	retrosp. coorte	registro nazionale	IVF- ICSI	9.275 5,4	1.690.577 3,8	1,39 (1,25-1,54)
Anthony 2002 ²²	Olanda	retrosp. coorte	registro nazionale	IVF- ICSI	4.224 0,7	314.605 0,5	1,03 (0,86-1,23)
Koivuova 2002 ²³	Finlandia	retrosp. coorte	coorte grav spontanee	IVF	304 6,6	569 4,4	1,53 (0,84-2,8)
Hansen 2002 ²⁵	Australia	retrosp. coorte	registro nazionale	ICSI- IVF	301 ICSI 837 IVF 266	4.000 4,2	2,22 (1,72-2,87)
Bonduelle 2004 ²⁷	Multicentrico 3 paesi	retrosp. coorte	coorte grav spontanee	ICSI	6,3	300 3	2,53 (1,07-5,98)
Bonduelle 2005 ²⁸	Multicentrico 5 paesi EU	retrosp. coorte	coorte grav spontanee	ICSI- IVF	540 ICSI 437 IVF	538 2,2	ICSI 2,77 (1,41-5,46) IVF 1,8 (0,85-3,81) 1,44 (1,25-1,65)
Katalinic 2004 ⁹	Germania	prosp. contr	registro nazionale	ICSI	3.372 -	8.016 -	
Kallen 2005 ²⁹	Svezia	coorte retrosp. coorte	registro nazionale	IVF- ICSI	16.280 5	2.039.943 4	1,26 (crude risk ratio)

Tab. III. Review e metanalisi sul rischio malformativo. *Risk of malformations: review and meta-analysis.*

Autore	Tipo di pubblicazione	Tecnica	Conclusioni
Retzliff e Hornstein, 2003 ²⁴	review di pubbl. selezionate	ICSI	complessivamente no aumento del rischio
Hampton et al., 2004 ³⁰	panel review di 2.444 articoli, di cui 169 utilizzabili	ICSI-IVF	complessivamente no aumento del rischio
Rimm et al., 2004 ³²	metanalisi 24 studi di cui 19 selezionati	ICSI-IVF	rischio aumentato OR 1,29 (1,01-1,67) IVF vs. ICSI = no differenza
Hansen et al., 2005 ³¹	revisione sistematica di 25 studi	ICSI-IVF	rischio aumentato del 30-40%

te, mentre la Sindrome di Angelman (alterazioni dello sviluppo neurologico, difficoltà di apprendimento, atassia, dismorfie facciali, con incidenza 1/30.000) è aumentata di 10 volte³⁶⁻³⁹. In tutto sono descritte due serie di bambini nati da PMA affetti dalla BWS: la prima di 7 nati di cui 4 dopo ICSI con spermatozoi eiaculati ed 1 da ICSI con spermatozoi testicolari, la seconda con 6 nati di cui 3 da ICSI. Sei di questi bambini sono stati studiati e sono state reperite alterazioni epigenetiche specifiche della BWS (mutazioni dei geni LIT1 e/o H19, due alterazioni distinte della metilazione tipiche della BWS). È stato ipotizzato inizialmente che l'uso di gameti immaturi, quindi con metilazione incompleta del DNA, potrebbe essere alla base di questo aumento del rischio, ma successivamente si è evidenziato che la anomala metilazione riguarda l'allele materno di questi geni e quindi non sembrano entrare in gioco le caratteristiche dello spermatozoo, ma piuttosto quelle dell'ovocita o la sua manipolazione, prima o dopo la fertilizzazione. Non sono state in effetti rilevate anomalie specifiche dei pattern conosciuti di metilazione del DNA nei nati da ICSI e negli spermatozoi dei loro padri^{40,41}, per quanto Marques et al. abbiano descritto nel 2004⁴² una associazione tra ipospermatogenesi e difetti di imprinting, che avrebbero quindi maggior possibilità di essere trasmessi dagli spermatozoi di questi pa-

zienti. In realtà i dati di Ludwig et al.⁴³ sui casi di sindrome di Angelman tedeschi dimostrano che la infertilità è di per sé un fattore di rischio per i difetti di imprinting. Il difetto di imprinting e la subfertilità potrebbero avere una causa comune e la induzione della superovulazione, piuttosto che la PMA, potrebbe ulteriormente aumentare il rischio di concepire un figlio affetto da difetto di imprinting. Trattandosi di patologie estremamente rare, un aumento del rischio relativo anche di grande ampiezza avrebbe comunque un effetto trascurabile sul rischio assoluto, come dimostra il fatto che i dati di follow-up del già citato registro danese non supportano comunque un aumento del rischio di tali patologie nei nati da PMA²⁶. Considerando la rarità dei difetti di imprinting sarà necessario un grande campione di nati da PMA per evidenziare aumenti di rischio di lieve entità e, vista la associazione tra anomala metilazione H19 e tumori dell'infanzia, dovrà essere posta attenzione particolare ad un follow-up fino al 5° anno di età.

Neoplasie

Per quanto riguarda le neoplasie nei nati da PMA nessun aumento è stato rilevato nei seguenti studi:

1. studio di coorte su 2.507 nati da PMA 1978-1991

Tab. IV. Valutazione del rischio malformativo - IVF vs. ICSI. *Evaluation of malformation risk: IVF vs. ICSI.*

Autore	Nazione	Tipo analisi	Casi esaminati		% malformazioni	
			IVF	ICSI	IVF	ICSI
Bonduelle et al., 2002 ³³	Belgio	retrosp. coorte	2.995	2.889	3,8 se inclusi nati morti e grav. interrotte:	3,4
Lie et al., 2004 ³⁴		metanalisi ²² pubblicazioni di cui 4 selezionate			4,6 no differenza rischio IVF vs. ICSI	4,2

- (8,6 anni follow-up) (Regno Unito);
2. studio retrospettivo di coorte su 5.586 nati da PMA (Svezia);
 3. studio retrospettivo confrontando nati da PMA con registro tumori (3 anni e 9 mesi di follow-up medio) (Australia);
 4. studio di coorte su bimbi nati naturalmente o con PMA da donne infertili (6 anni follow-up) (Olanda)⁴⁴;
 5. studio di coorte su 6.052 nati da PMA e 442.349 nati da gravidanza spontanea (Danimarca)²⁶.

Sono stati descritti 5 casi di retinoblastoma (RB) sporadico (due bilaterali e tre unilaterali) in nati da IVF. Nei bimbi affetti da questa neoplasia è stato rilevato un eccesso di nati da PMA rispetto alla stessa frazione nella popolazione sana; il rischio relativo per i nati da PMA sembrava essere tra 4,9 e 7,2⁴⁵. Questo rischio non è però stato confermato dai recenti dati. Uno studio di coorte olandese sulle IVF dal 1980 al 1995 non ha trovato casi di RB ed anche il già citato studio danese non ha confermato l'associazione. Trattandosi di una patologia rara sarà necessaria la massima attenzione alle eventuali future segnalazioni della letteratura. La ipotesi di alcuni studiosi è che, essendo i casi relegati ad una realtà geografica e temporale delimitata, potrebbe essersi trattato di un fenomeno legato a particolari condizioni terapeutiche o tecniche successivamente modificate e non generalizzate (farmaci? terreni di coltura?).

Sviluppo fisico, psicomotorio e affettivo

Lo sviluppo fisico dei nati da PMA è stato studiato con follow-up ed è risultato normale sia a due anni⁴⁶ che a cinque anni⁴⁷. Gli indici di accrescimento sono correlati all'età gestazionale, peso alla nascita e circonferenza cranica e sono tutti nei limiti rispetto ai controlli⁴⁸. Nessuna differenza a questo riguardo è stata rilevata tra bimbi concepiti naturalmente, con induzione ovulazione, senza e con IVF⁴⁹.

I dati più recenti vengono dal follow-up a 5 anni di un gruppo di 300 nati da ICSI nei tre centri di Bruxelles, New York (*Cornell University*) e Göteborg; questi bambini sono stati confrontati con altrettanti nati da concepimento spontaneo²⁷. Dopo stratificazione per età, età materna, sesso e, in un solo centro, anche per livello scolastico materno, non sono state evidenziate differenze nei parametri di crescita, malgrado la maggiore incidenza di nati pretermine, nati sottopeso e ricoverati in terapia intensiva per più

di una settimana nel gruppo dei nati da ICSI. Malattie comuni e croniche avevano la stessa incidenza nei due gruppi, fatto mai studiato prima in letteratura. I bimbi del gruppo ICSI avevano subito un maggior numero di interventi chirurgici, a causa di una maggiore incidenza di problemi minori all'orecchio, ed avevano più spesso necessitato di fisioterapia e terapie dietetiche. L'esame neurologico non dimostrava diversa frequenza di anomalie.

Dal punto di vista della crescita psicologica ed affettiva è stata rilevata una migliore funzione genitoriale nelle famiglie con figli nati da PMA rispetto ai concepiti naturalmente mentre nei due gruppi non è stata rilevata alcuna differenza negli aspetti emozionali comportamentali e nella relazione con i genitori⁵⁰. Nei nati da PMA non è stato rilevato un aumento di problemi psicologici o comportamentali rispetto ai controlli⁵¹.

Quale è la vera causa dell'aumento del rischio ostetrico e malformativo?

Il punto debole di tutti gli studi sull'incidenza di anomalie nei nati da PMA è che essi confrontano due gruppi comunque diversi, il primo costituito da pazienti infertili ed il secondo da persone fertili. Il gruppo di controllo ideale per questi studi sarebbe costituito da pazienti infertili, appaiati per diagnosi eziologica di infertilità, che concepiscono spontaneamente.

Un aumento del rischio ostetrico e perinatale dopo trattamento è stato da tempo descritto nelle coppie infertili, indipendentemente dalla modalità terapeutica con cui ottengono la gravidanza, se confrontate con le coppie che concepiscono spontaneamente⁵². In una coorte di infertili inspiegati è stato dimostrato un aumento dell'incidenza di distacco di placenta, preeclampsia, taglio cesareo, indipendentemente dal fatto che la gravidanza fosse ottenuta spontaneamente o con terapia⁵³. In pazienti che concepiscono senza alcuna terapia dopo più di un anno di ricerca della gravidanza è stato dimostrato un aumento del rischio di basso peso alla nascita e di ritardo di crescita intrauterina del feto. Il rischio di parto pretermine è aumentato di 1,6-1,8 volte^{54,55} ed il rischio relativo di preeclampsia è 1,62 (IC 95% 1,14-2,30)⁵⁶.

Per quanto riguarda le malformazioni dopo gravidanze concepite spontaneamente in subfertili esiste una sola ricerca⁵⁷, che dimostra che il rischio malformativo è correlato agli anni necessari ad ottenere la gravidanza (*Time to Pregnancy*, TTP). Sia dopo quattro che dopo cinque anni il rischio è significativamente aumentato rispetto a quello dei tre-quattro anni precedenti (odds ratio rispettivamente 1,17-1,18). Un

contributo importante nel chiarire la origine delle anomalie potrebbe venire dalla raccolta dei dati sulle gravidanze ottenute dopo induzione della ovulazione e quelle da inseminazione, attualmente carenti. In questi casi sarebbe possibile escludere il contributo relativo degli aspetti laboratoristici, che qui sono assenti o applicati solo a liquidi seminali non gravemente alterati. Per il momento abbiamo pochi dati, sufficienti per confrontare soltanto l'incidenza di alcune patologie ostetriche comuni. Nel lavoro di Nuojua-Huttunen⁵⁸ non risulta un aumento significativo del rischio ostetrico nelle IUI rispetto alla gravidanza spontanea o dopo IVF, fatto salvo quello legato alla gemellarità. De Sutter et al.⁵⁹ hanno confrontato i dati di 126 gravidanze da IUI con 126 gravidanze IVF. Non c'è stata differenza nell'incidenza di parto pretermine, basso peso alla nascita, taglio cesareo, ricovero in terapia intensiva neonatale, Apgar score, ipertensione materna. Questo per ora ci consente soltanto di ipotizzare che la tecnica applicata sia meno importante delle caratteristiche dei pazienti trattati.

Conclusioni

Il corpo di conoscenze sui nati da PMA, con tutte le limitazioni imposte dai bias noti di queste ricerche, mette oggi in evidenza alcuni rischi, sia perinatologici che genetici e malformativi in questi bambini. Per quanto diventi sempre più evidente che le tecniche di PMA potrebbero avere un peso secondario nella eziologia di queste anomalie rispetto al peso della infertilità stessa, i cui fattori di rischio sono ugualmente coinvolti nella genesi delle anomalie e, per quanto lo studio accurato dei nati da concepimento spontaneo nelle coppie fertili stia evidenziando anche in questo gruppo una maggiore incidenza

di malformazioni rispetto alle nostre tradizionali nozioni, oggi non è ancora possibile escludere un effetto negativo delle tecniche di PMA sulla prole, legato a qualche aspetto delle stesse tecniche. Questo significa che dovranno essere messe in opera tutte le possibili alternative terapeutiche alle tecniche stesse, quando ciò sia possibile e ragionevole. Questo significa anche una necessaria rivalutazione del ruolo dell'andrologo nella diagnosi e terapia della sterilità. Nel contempo dovremo trovare un modo di comunicare i rischi ai pazienti che sappia esprimere tutta la complessità del problema e riesca a comunicare il fatto che queste conoscenze cambiano ogni giorno come frutto di un costante "work in progress" degli addetti ai lavori, non dimenticando mai che le tecniche di PMA sono "una cura" e, come tutte le cure, hanno vantaggi e svantaggi. Starà infine al paziente, informato da noi, decidere se sottoporvisi o no, come sempre.

Take home message

Il rischio di complicanze perinatologiche e malformative è più alto nelle gravidanze ottenute con procreazione assistita. La elevata percentuale di gravidanze multiple contribuisce in modo rilevante a questo aumento, che è però rilevabile anche nelle gravidanze singole.

La maggior parte dei ricercatori ipotizza che la infertilità stessa sia la causa più probabile di tale aumento. La tecnica impiegata e l'origine degli spermatozoi utilizzati non sembrano cambiare sensibilmente il rischio malformativo.

La crescita e lo sviluppo psicoaffettivo dei bimbi non sembrano influenzate dalle tecniche di PMA.

Sono necessari studi di follow-up con grande numerosità del campione, protratti fino all'età adulta.

Bibliografia

- 1 ASRM/SART. *Assisted reproductive technology in the United States: 1999 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry*. Fertil Steril 2002;78:918-31.
- 2 Schieve L, Tatham L, Peterson HB, Toner J, Jeng G. *Spontaneous abortion among pregnancies conceived using assisted reproductive technology in the United States*. Obstet Gynecol 2003;101:959-67.
- 3 Schieve L, Meikle S, Ferre C, Petersen H, Jeng G, Wilcox L. *Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology*. N Engl J Med 2002;346:731-7.
- 4 Dhont M, De Sutter P, Ruysinck G, Martens G, Bekaert A. *Perinatal outcome of pregnancies after assisted reproduction: a case-control study*. Am J Obstet Gynecol 1999;181:688-95.
- 5 Pinborg A, Loft A, Rasmussen S, Schimdt L, Langhoff-Roos J, Greisen G, et al. *Neonatal outcome in a Danish national cohort of 3438 IVF/ICSI twins and 10632 non IVF/ICSI twins born between 1995 and 2000*. Hum Reprod 2004;19.
- 6 Pinborg A, Lidegaard J, La Cour Freiesleben N, Nyboe Andersen A. *Consequences of vanishing twins in IVF/ICSI pregnancies*. Hum Reprod 2005; Advance Access published on June 24.
- 7 Wisanto A, Magnus M, Bonduelle M, Liu J, Camus M, Tournaire H, et al. *Obstetric outcome of 424 pregnancies after intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod 1995;10:2713-8.

- ⁸ Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde M-P, Camus M, Devroey P, et al. *Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999)*. Hum Reprod 2002a;17:671-94.
- ⁹ Katalinic A, Rosh C, Ludwig M, for The German ICSI Follow-up Study Group. *Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: a controlled, prospective cohort study*. Fertil Steril 2004;81:1604-16.
- ¹⁰ Ludwig M, Katalinic A. *Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility*. Hum Reprod 2003;18:351-7.
- ¹¹ Vernaeve V, Bonduelle M, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem A, Devroey P. *Pregnancy outcome and neonatal data of children born after ICSI using testicular sperm in obstructive and non-obstructive azoospermia*. Hum Reprod 2003;18:2093-7.
- ¹² Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. *Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis*. Obstet Gynecol 2004;103:551-63.
- ¹³ Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ. *Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies*. Br Med J 2004;328:261.
- ¹⁴ Green NS. *Risk of birth defects and other adverse outcomes associated with assisted reproductive technology*. Pediatrics 2004;256-9.
- ¹⁵ Martin JA, Hamilton BE, Ventura SJ, Menacker F, Park MM, Sutton PD. *Births: final data for 2001*. Natl Vital Stat Rep 2002;51:1-102.
- ¹⁶ Andersen NA, Gianaroli L, Nygren KG. *Assisted reproductive technology in Europe 2000. Results generated from European registers by ESHRE*. Hum Reprod 2004;19:490-503.
- ¹⁷ Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Ver-cruyssen M, Barudy-Vasquez J, et al. *Elective single day 3 embryo transfer halves the twinning rate without decrease in the ongoing pregnancy rate of the IVF/ICSI programme*. Hum Reprod 2002;17:2626-31.
- ¹⁸ Bonduelle M, Legein J, Buysse A, Van Assche E, Wisanto A, Devroey P, et al. *Prospective follow-up study of 423 children born after intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod 1996;11:1558-64.
- ¹⁹ Westergaard HB, Tranberg Johansen AM, Erb K, Nyboe Andersen A. *Danish National in vitro Fertilization Registry 1994 and 1995: A controlled study of byrths, malformations and cytogenetic findings*. Hum Reprod 1999;14:1896-902.
- ²⁰ Ericson A, Källén B. *Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study*. Hum Reprod 2001;16:504-9.
- ²¹ Wennerrholm UB, Bergh C, Hamberger L, Lundin K, Nilsson L, Wickland M, et al. *Incidence of congenital malformations in children born after ICSI*. Hum Reprod 2000;15:944-8.
- ²² Anthony S, Buitendijk SE, Dorrepaal CA, Linder K, Braat DDM, Den Ouden AL. *Congenital malformations in 4224 children conceived after IVF*. Hum Reprod 2002;17:2089-95.
- ²³ Koivurova S, Hartikainen AL, Gissler M, Hemminki E, Sovio V, Järvelin MR. *Neonatal outcome and congenital malformations in children born after in vitro fertilization*. Hum Reprod 2002;17:1391-8.
- ²⁴ Retzlloff MG, Hornstein MD. *Is intracytoplasmic sperm injection safe?* Fertil Steril 2003;80.
- ²⁵ Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. *The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization*. N Engl J Med 2002;346:725-30.
- ²⁶ Lidegaard Ø, Pinborg A, Andersen AN. *Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study*. Hum Reprod 2005;20:950-4.
- ²⁷ Bonduelle M, Bergh C, Niklasson A, Palermo GD, Wennerholm UB. *Medical follow-up study of 5-year-old ICSI children*. Reprod Biomed Line 2004;9:91-101.
- ²⁸ Bonduelle M, Wennerholm U-B, Loft A, Tarlatzis BC, Peters C, Henriët S, et al. *A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception*. Hum Reprod 2005;20:413-9.
- ²⁹ Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG, Olausson PO. *In vitro fertilisation (IVF) in Sweden: risk for congenital malformations after different IVF methods*. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 2005;73:162-9.
- ³⁰ Hampton T. *Panel Reviews Health Effects Data for Assisted Reproductive Technologies*. JAMA 2004;292:2961-2.
- ³¹ Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. *Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects- a systematic review*. Hum Reprod 2005;20:328-38.
- ³² Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. *A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children*. J Assist Reprod Genet 2004;21:437-43.
- ³³ Bonduelle M, Liebaers IE, Deketelaere V, Derde MP, Camus M, Devroey P, et al. *Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999)*. Hum Reprod 2002;17:671-94.
- ³⁴ Lie RT, Lyngstadass A, Orstavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen G, Tanbo T. *Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis*. Int J Epidemiol 2004;34:696-701.
- ³⁵ De Rycke M, Liebaers I, Van Steirteghem A. *Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies. Risk analysis and epigenetic inheritance*. Hum Reprod 2002;17:2487-94.
- ³⁶ Sudcliffe AG, D'Souza SW, Cadman J, Richards B, McKinlay IA, Lieberman B. *Minor congenital anomalies, major congenital malformations and development in children conceived from cryopreserved embryos*. Hum Reprod 1995;10:3332-7.
- ³⁷ DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg A. *Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19*. Am J Hum Genet 2003;72:156-60.
- ³⁸ Maher E, Brueton L, Bowdin S, Luharia A, Cooper W, Cole T, et al. *Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART)*. J Med Genet 2003;40:62-4.
- ³⁹ Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, et al. *Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects*. Am J Hum Genet 2002;71:162-4.
- ⁴⁰ Manning M, Lissen W, Bonduelle M, Camus M, De Rijcke M, Liebaers I, et al. *Study of DNA-methylation patterns at chromosome 15q11-q13 in children born after ICSI reveals no im-*

- printing defects*. *Mol Hum Reprod* 2000;6:1049-53.
- ⁴¹ Manning M, Lissen W, Liebaers I, Van Steirteghem A, Weidner W. *Imprinting analysis in spermatozoa prepared for intracytoplasmic sperm injection (ICSI)*. *Int J Androl* 2001;24:87-94.
- ⁴² Marques CJ, Souza M, Barros A. *Genomic imprinting in disruptive spermatogenesis*. *Lancet* 2004;363:1700-2.
- ⁴³ Ludwig M, Katalinic A, Gross S, Varon R, Horsthemke B. *Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to subfertile couples*. *J Med Genet* 2005;42:289-91.
- ⁴⁴ National Institute for Clinical Excellence. *Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems*. RCOG Press (www.nice.org.uk) 2004.
- ⁴⁵ Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JR, Schouten-van Meeteren AY, Boers M, van Leeuwen FE. *Incidence of retinoblastoma in children born after in vitro fertilisation*. *Lancet* 2003;361:309-10.
- ⁴⁶ Bonduelle M, Ponjaert I, Van Steirteghem A, Derde M-P, Devroey P, Liebaers I. *Developmental outcome at 2 years of age for children born after ICSI compared with children born after IVF*. *Hum Reprod* 2003;18:342-50.
- ⁴⁷ Leslie G, Cohen FL, Gibson FCM. *ICSI children have normal development at school age*. 18th annual meeting of the ESHRE. Vienna: ESHRE 2002;3 (abstract).
- ⁴⁸ Brandes JM, Scher AI. *Growth and development of children conceived by in vitro fertilization*. *Pediatrics* 1992;90:424-9.
- ⁴⁹ Raoul-Duval A, Bertrand-Servais M, Letur-Konirsch H, Frydman R. *Psychological follow-up of children born after in vitro fertilization*. *Hum Reprod* 1994;9:1097-101.
- ⁵⁰ Golombok S, Cook R, Bish A, Murray C. *Families created by the new reproductive technologies: quality of parenting and social and emotional development of the children*. *Child Dev* 1995;66:285-98.
- ⁵¹ Montgomery TR, Aiello F, Adelman RD, Wasylshyn N, Andrews MC, Brazelton TB, et al. *The psychological status at school age of children conceived by in vitro fertilization*. *Hum Reprod* 1999;14:2162-5.
- ⁵² Sundström I, Ildgruben A, Högberg U. *Treatment-related and treatment-independent deliveries among infertile couples, a long-term follow-up*. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76:238.
- ⁵³ Pandian Z, Bathacharya S, Templeton A. *Review of unexplained infertility and obstetric outcome: a 10 year review*. *Hum Reprod* 2001;16:2593-7.
- ⁵⁴ Williams MA, Goldman MB, Mittendorf R, Monson RR. *Subfertility and the risk of low birth weight*. *Fertil Steril* 1991;56:668-71.
- ⁵⁵ Henriksen TB, Baird DD, Olsen J. *Time to pregnancy and preterm delivery*. *Obstet Gynecol* 1997;89:594-9.
- ⁵⁶ Basso O, Weinberg CR, Baird DD, Wilcox AJ, Olsen J; Danish National Birth Cohort. *Subfecundity as a correlate of preclampsia: a study within the Danish National Birth Cohort*. *American J Epidemiol* 2003;157:195-202.
- ⁵⁷ Ghazi HA, Spielberger C, Kallen B. *Delivery outcome after infertility – a registry study*. *Fertil Steril* 1991;55:726-32.
- ⁵⁸ Nuojua-Huttunen S, Gissler M, Martikainen H, Tuomivaara L. *Obstetric and perinatal outcome of pregnancies after intrauterine insemination (IUI)*. *Hum Reprod* 1999;14:2110-5.
- ⁵⁹ De Sutter P, Veldeman L, Kok P, Szymczak N, Van der Elst J, Dhont M. *Comparison of outcome of pregnancy after intrauterine insemination (IUI) and IVF*. *Hum Reprod* 2005;20:1642-6.

Domanda 1: Nelle gravidanze da riproduzione assistita il rischio di parto prematuro è:

- a. Diminuito
- b. Aumentato
- c. Uguale alle gravidanze spontanee

Domanda 2: I tassi di mortalità perinatale delle gravidanze multiple rispetto alle singole sono:

- a. 2 volte
- b. Uguali
- c. 5,9 volte

Domanda 3: Secondo le più recenti tendenze, quanti embrioni dovrebbero essere idealmente trasferiti in utero?

- a. Tre
- b. Due
- c. Uno

Domanda 4: Nelle gravidanze trigemine qual è il rischio di malformazioni?

- a. 1%
- b. 3%
- c. 6,7%

Domanda 5: Secondo le più recenti meta-analisi il rischio malformativo dopo riproduzione assistita è:

- a. Aumentato del 30%
- b. Aumentato del 67%
- c. Uguale a quello dei concepimenti naturali

Domanda 6: Il rischio malformativo della ICSI, rispetto alla FIVET è:

- a. Maggiore
- b. Minore
- c. Uguale

Domanda 7: In che percentuale i pazienti candidati alla ICSI possono essere portatori di una delle varie anomalie genetiche legate alla sterilità maschile?

- a. 12%
- b. 24%
- c. 6%

Domanda 8: Qual è la anomalia genetica neonatale che aumenta più evidentemente dopo ICSI?

- a. Traslocazioni bilanciate
- b. Sindrome di Down
- c. Aneuploidia dei cromosomi sessuali

Domanda 9: L'aumento delle anomalie dell'imprinting descritto nei nati da PMA si ipotizza sia legato a:

- a. L'età materna
- b. La infertilità stessa
- c. La origine etnica

Domanda 10: Nelle gravidanze concepite spontaneamente in coppie subfertili il rischio malformativo è correlato con:

- a. L'età della donna
- b. L'età dell'uomo
- c. La durata della infertilità

Conseguenze cromosomiche e genetiche nei bambini nati con tecnica ICSI

Chromosomal and genetic consequences in children born through ICSI technique

I. NATALI

Centro di Sterilità, Ospedale “SS. Cosma e Damiano”, Pescia, Pistoia

Parole chiave: Infertilità maschile, ICSI, Anomalie cromosomiche e genetiche, Microdelezioni dell’Y, Anomalie dell’imprinting

Key words: *Infertility male, ICSI, Chromosomal and genetic anomalies, Y-chromosome microdeletions, Imprinting anomalies*

Riassunto

Introduzione e scopo. Molti casi di infertilità maschile vengono ormai da anni risolti grazie alla Iniezione Intracitoplasmatica di Spermatozoi o ICSI. Lo scopo del presente lavoro è valutare il ruolo della ICSI nell’aumento delle anomalie cromosomiche e genetiche osservate nei bambini concepiti grazie a questa tecnica.

Metodi. È stata fatta una revisione di articoli selezionati riguardanti l’incidenza di anomalie cromosomiche e genetiche nei bambini nati con la ICSI.

Risultati. Sulla base dei lavori considerati, si osserva un incremento delle anomalie cromosomiche, soprattutto dei cromosomi sessuali, tra i bambini nati dalla ICSI, rispetto a quelle attese nella popolazione generale.

Per quanto riguarda le anomalie genetiche (microdelezioni del cromosoma Y e anomalie dell’imprinting), sebbene non tutti gli Autori siano concordi, esse risultano aumentate rispetto alla frequenza nella popolazione generale.

Conclusioni. Gli studi citati sono concordi nell’evidenziare un aumento dell’incidenza delle anomalie cromosomiche nei bambini nati con la ICSI, in particolare dei cromosomi sessuali, dovute all’iniezione di spermatozoi portatori di anomalie, senza dimenticare che a tale incremento potrebbe contribuire il fattore dell’età materna.

Quando le microdelezioni del cromosoma Y sono presenti nei padri che ricorrono alla ICSI, esse possono essere trasmesse verticalmente, dal padre al figlio, ma non si può ritenere la ICSI responsabile della comparsa di mutazioni *de novo*.

Contrastanti, invece, sono le posizioni dei diversi Autori proposito del ruolo della ICSI nell’incremento delle anomalie dell’imprinting.

Summary

Objective. *Many infertile male cases found their solutions thanks to Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). The aim of this study is to determine the role of ICSI in the increase of chromosomal and genetic anomalies in children conceived through this technique.*

Methods. *Selective review of the literature about the chromosomal and genetic abnormalities rate in ICSI babies.*

Results. *This study shows an increased incidence of chromosome anomalies (in particular sex chromosome anomalies) and genetic anomalies (Y chromosome microdeletions and imprinting anomalies) in ICSI babies.*

Conclusions. *We found evidence of an increased risk of chromosomal anomalies in children born from ICSI technique, in particular sex chromosome anomalies. We also have taken into account the female age factor that could influence the chromosomal anomalies rate.*

When Y microdeletions are present in fathers, we can observe a vertical transmission of the defect, but ICSI does not influence the Y microdeletions de novo rate.

It is not clear whether ICSI resulted in an increase of the imprinting defects in offspring.

Introduzione

La ICSI (*IntraCytoplasmic Sperm Injection*), tecnica potente che permette l’incontro tra lo spermatozoo e l’ovocita in casi di gravi alterazioni del seme e nelle situazioni di eziologia non conosciuta – le sterilità idiopatiche –, da tempo è tecnica diffusa ed apprezzata per la sua efficacia¹. Usata nel trattamento delle dispermie

severe, permette l’utilizzo dei pochi spermatozoi presenti nell’ejaculato.

Così, la ICSI aggira le naturali barriere di selezione che privilegiano gli spermatozoi migliori, e utilizza quelli che in condizioni di concepimento spontaneo non avrebbero mai fertilizzato l’ovocita.

Questi spermatozoi sono teoricamente portatori di anomalie genetiche o difetti strutturali, mentre l’ovocita è a

sua volta potenzialmente danneggiato dai trattamenti meccanici o chimici².

Si discute ormai da tempo delle probabili ripercussioni della ICSI sulla prole, e del fatto che tali conseguenze – in particolare, le anomalie cromosomiche e genetiche – dipendano dalla tecnica o piuttosto dalla condizione di infertilità del padre (ma non possiamo escludere anche quella materna), che spesso si associa ad una aumentata incidenza delle anomalie cromosomiche e/o genetiche degli spermatozoi.

Possono essere identificati due tipi di rischi conseguenti alle tecniche di fecondazione *in vitro*: i rischi legati ai genitori e i rischi legati all'esecuzione delle tecniche, o rischi procedurali³. Il primo tipo di rischio è legato all'eziologia dell'infertilità ed ai genitori in quanto potenziali portatori di anomalie genetiche e cromosomiche, oppure ad aumentato rischio per l'età materna e paterna avanzate.

I rischi procedurali possono a loro volta essere dovuti a:

- 1) l'eliminazione dei meccanismi di selezione naturale dei gameti;
- 2) alla fertilizzazione di ovociti di scarsa qualità;
- 3) alla creazione di ambienti ormonali alterati dalle terapie;
- 4) ai danni chimici o meccanici;
- 5) all'insorgenza di mutazioni puntiformi *in vitro*;
- 6) alle anomalie dell'imprinting;
- 7) alla coltura *in vitro* prolungata, ovvero alla crescita di embrioni fino allo stadio di blastocisti.

Sepulveda et al., in un lavoro pubblicato nel 2005⁴, aggiungono ai rischi procedurali esposti da Patrizio et al. nel 2001 i danni al fuso meiotico, l'introduzione di sostanze contaminanti e di DNA esogeno. Per quanto riguarda i rischi non dipendenti dalla tecnica, specifica che consistono in: microiniezione di spermatozoi cromosomicamente anomali, trasmissione di difetti genetici legati all'eziologia dell'infertilità maschile, difetti strutturali degli spermatozoi, anomalie dei fattori di attivazione degli spermatozoi, incorporazione di DNA mitocondriale e anomalie ovcitarie correlate all'età.

A sostegno dell'esistenza dei rischi dovuti alla tecnica in sé, possono essere citati i lavori di diversi Autori. Nel lavoro di Dumoulin et al. del 2001⁵, lo sviluppo *in vitro* dell'embrione fino allo stadio di blastocisti dipende fortemente dalla tecnica di iniezione intracitoplasmatica, cioè dalla quantità di citoplasma dell'ovocita aspirato durante la microiniezione dello spermatozoo, nonché dalla modalità di rottura della membrana ovcitaria. Osservazioni riguardanti il punto di iniezione dello spermatozoo rispetto al globulo polare sia

nell'ovocita di Hamster, sia in quello umano e i relativi danni arrecati al fuso meiotico, sono espresse nei lavori di Asada et al. del 1995⁶ e di Blake et al.⁷ del 2000. Terada et al. nel 2000⁸ sostengono che, nell'ovocita di Hamster, la ICSI potrebbe condurre ad asincrona decondensazione del nucleo dello spermatozoo, con conseguente anomalia dei cromosomi sessuali. Nei lavori di Griffiths et al. del 2000⁹, di Miller e Smith del 2001¹⁰ e di Dumoulin et al. del 2000¹¹, il numero di blastocisti ottenute con la ICSI è inferiore rispetto a quello delle blastocisti ottenute per mezzo della FIVET, e ciò risulta vero anche in casi di lieve alterazione dei parametri seminali¹². La capacità di impiantarsi e dividersi, nonché il tasso di abortività degli embrioni ottenuti da ICSI e sottoposti a congelamento e scongelamento sono inferiori a quelli degli embrioni ottenuti con la FIVET^{13 14}.

Infine, in uno studio condotto sul modello animale, le anomalie della coda negli spermatozoi del topo mutante *azh/azh* risultavano aumentate nella prole ottenuta attraverso la ICSI, cioè si osservava un peggioramento della qualità del seme nella generazione successiva¹⁵.

Questo lavoro si propone di riportare le posizioni dei diversi Autori sulle conseguenze della ICSI nei nati da padri fortemente dispermici, e tentare di valutare se gli effetti osservati su tali bambini dipendono dalla tecnica in sé, o, piuttosto, dal fatto che a diventare genitori sono maschi un tempo ritenuti sterili.

Materiali e metodi

I lavori oggetto di analisi in questo studio, sono stati trovati eseguendo una ricerca su Medline per le pubblicazioni più recenti a partire dal 1996, oppure tra gli atti dei Congressi Nazionali ed Internazionali sul tema della fecondazione assistita, tenutisi in Italia negli ultimi anni.

Per quanto riguarda i criteri di esclusione, non è stato possibile escludere quei lavori nei quali la dimensione della popolazione in studio era ridotta (pur costituendo ciò una limitazione dal punto di vista statistico), visto il numero esiguo di studi sulle conseguenze cromosomiche e genetiche nei bambini nati da ICSI.

Allo stesso modo, non è stato possibile escludere quei lavori che non sono tra loro direttamente confrontabili; ad esempio, in alcuni lavori i tassi di anomalie cromosomiche e genetiche sono confrontati con un gruppo di controllo, a differenza di quelli in cui il gruppo di controllo non è stato preso in considerazione.

Sono stati esclusi, invece, tutti quei lavori che riportano i dati relativi a malformazioni congenite maggiori e minori, ma nei quali non si faceva alcun riferimento alle anomalie cromosomiche e/o genetiche.

L'infertilità maschile come conseguenza delle anomalie cromosomiche e genetiche

Capire che l'infertilità maschile può avere basi cromosomiche e/o genetiche, permette di prevedere che può esservi una forma di ereditabilità di queste anomalie consentita dalla ICSI da parte dei bambini nati con questa tecnica.

È noto da tempo che nelle coppie infertili la frequenza delle anomalie cromosomiche è più alta se confrontata con quella delle anomalie cromosomiche nella popolazione generale¹⁶.

Tra i lavori mirati a stabilire la frequenza delle anomalie cromosomiche nei maschi e nelle donne di coppie infertili, va citato quello di Gekas et al. del 2001¹⁷; si tratta di uno studio citogenetico su un campione di 3.208 pazienti – 2.196 uomini (68,4%) e 1.012 donne (31,6%) – coinvolti in un programma ICSI nel periodo di tre anni in 20 centri di riproduzione assistita francesi. Sono stati diagnosticati in tutto 183 cariotipi anomali (si rimanda alla lettura dell'articolo per un quadro completo dei cariotipi), con una frequenza di 6,1% (134/2.196) per gli uomini. Negli azoospermici l'incidenza del cariotipo 47,XXY era 141 volte superiore a quella osservata tra i neonati, l'incidenza delle anomalie dell'Y era superiore di 46,6 volte a quella dei neonati, mentre l'incidenza dei mosaicismi dei cromosomi sessuali era più elevata tra gli azoospermici.

Incrementi negli uomini rispetto ai neonati si osservavano anche per le anomalie autosomiche strutturali bilanciate e per le traslocazioni reciproche.

L'incidenza delle traslocazioni robertsoniane negli uomini era 9,1 volte più alta, e la frequenza delle inversioni 3,3 volte più alta, rispetto al gruppo dei neonati ($p < 0,01$).

Dohle et al. hanno pubblicato nel 2002¹⁸ uno studio su 150 maschi con oligozoospermia severa o azoospermia in attesa di sottoporsi a ICSI. Sono state indagate le anomalie cromosomiche, le microdelezioni dell'Y e le mutazioni del gene della fibrosi cistica, CFTR. In 16 pazienti, sono state trovate anomalie dei cromosomi sessuali, in 8 delezioni della regione AZFc del cromosoma Y ed in 14 mutazioni del gene CFTR. Complessivamente, il tasso delle anomalie

cromosomiche e/o genetiche in questi pazienti, è del 10,6%.

Nel lavoro di Clementini et al. del 2005¹⁹, si sottolinea l'importanza dello screening genetico dei pazienti che si sottopongono a trattamenti di fecondazione *in vitro*. Lo studio, che ha preso in considerazione 2.078 coppie, evidenzia l'aumentata frequenza delle anomalie, sia in termini di riarrangiamenti cromosomici, sia in termini di microdelezioni dell'Y. Per quanto riguarda l'associazione tra le microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y e la condizione di oligospermia o azoospermia, essa costituisce un fatto noto da più di 20 anni²⁰.

Molti studi scientifici si sono occupati della incidenza delle microdelezioni dell'Y negli oligospermici severi o azoospermici, e la review pubblicata da Foresta et al. nel 2001²¹ fornisce un'ampia panoramica al riguardo. I recenti progressi della biologia molecolare e della mappatura del cromosoma Y hanno reso l'analisi delle microdelezioni dell'Y un test routinario. Nel citato lavoro di Foresta et al., l'incidenza delle microdelezioni dell'Y nei maschi infertili è dell'8,2%, rispetto ad un'incidenza nei maschi fertili dello 0,4%. In letteratura esistono però differenze notevoli per quanto riguarda la prevalenza delle microdelezioni dell'Y nei maschi infertili, con valori che variano dall'1 al 35%: ciò riflette i diversi criteri di selezione dei pazienti. La prevalenza delle microdelezioni dell'Y aumenta quando vengono adottati criteri di selezione dei pazienti molto severi. Infatti, se negli oligospermici non selezionati la prevalenza è del 2,9%, essa raggiunge l'11,6% nei pazienti con oligospermia idiopatica ed il 14,3% nei pazienti con oligospermia idiopatica severa (spermatozoi < 5 mil/ml). Analogamente, se nei pazienti con azoospermia non selezionati l'incidenza è del 7,3%, si raggiungono incidenze del 10,5% e del 18% rispettivamente nelle forme non ostruttive e in quelle idiopatiche.

Alcune delle anomalie genetiche che causano l'infertilità maschile sono rappresentate da mutazioni del gene CFTR, il gene che codifica per la proteina regolatrice della conduttanza di membrana delle cellule, responsabile della fibrosi cistica. Almeno il 70% degli uomini portatori della condizione nota come CBAVD, o assenza congenita bilaterale dei vasi deferenti (*Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens*), ha un'azoospermia ostruttiva ed è portatore di una mutazione a carico del gene CFTR.

In una ricerca di mutazioni del gene CFTR effettuata su 150 pazienti appartenenti a coppie in lista per la ICSI con infertilità da almeno un anno e con una concentrazione di spermatozoi inferiore al milione per

ml, è stata rilevata almeno una mutazione del gene CFTR in 4/6 uomini con CBAVD e in 10 su 144 uomini senza un problema di vasi deferenti. In totale, 14 uomini su 150 (9,3%) avevano mutazioni del gene CFTR, ed in 4 casi vi erano associate anomalie dei vasi deferenti. Due dei 14 pazienti, possedevano anche un secondo fattore di rischio: un paziente 47,XXY possedeva la mutazione R117H del gene CFTR, il secondo, aveva sia una microdelezione nella regione AZFc del cromosoma Y, sia una mutazione $\Delta F508$ nel gene CFTR. La percentuale di mutazioni del gene CFTR negli uomini senza CBAVD esaminati in quello studio – 10/144 (6,94%) – era comunque superiore a quella della popolazione olandese – 1/30 (3,33%)¹⁸.

Pertanto, se pensiamo che un certo numero di maschi infertili, a più alto rischio di anomalie cromosomiche o genetiche, sono probabili candidati alla ICSI, i nati con questa tecnica potrebbero presentare una probabilità aumentata di rischi cromosomici o genetici.

I rischi cromosomici e genetici nei bambini nati da padri infertili con la ICSI

I RISCHI CROMOSOMICI

Lo studio delle meiosi negli spermatozoi di uomini infertili, ha dimostrato che in questi uomini esistono anomalie nella formazione di sinapsi, che possono condurre ad arresto della meiosi o ad anomalie cromosomiche (ad es. spermatozoi diploidi o con disomie dei cromosomi sessuali)²².

Lo studio di Levron et al. del 2001²³, è stato condotto sugli spermatozoi di maschi infertili per determinare l'incidenza delle anomalie cromosomiche. I pazienti in studio sono stati divisi in tre categorie, più il gruppo di controllo (n = 6): quella degli azoospermici non-ostruiti (n = 9), degli azoospermici ostruiti (n = 10) e, infine, dei pazienti con sindrome di Klinefelter (n = 5). L'incidenza delle anomalie cromosomiche riguardante i cromosomi X, Y, e 18 era: 19,6% nel primo gruppo, 8,2% nel secondo, 6,3% nel terzo e tutte risultavano significativamente più elevate di quelle riscontrate nel gruppo di controllo (1,6%, $p < 0,001$), e di quelle riportate in letteratura⁹. L'incidenza delle aneuploidie dei cromosomi sessuali era significativamente più alta di quella del cromosoma 18.

In uno studio di Aboulghar et al. del 2001²⁴ sono stati presi in considerazione i cariotipi di 430 bambini nati dalla ICSI, i quali sono stati confrontati con 430 bambini concepiti naturalmente: scopo dello studio è

stabilire se esiste un incremento delle anomalie cromosomiche nei bambini concepiti con la ICSI.

Nel gruppo dei bambini concepiti con la ICSI, i cariotipi normali erano 415 (96,5%) e 15 (3,5%) quelli anomali; di questi 15 bambini, 11 provenivano da gravidanze singole e 4 da gravidanze plurime. Tra i 15 bambini, 6 avevano anomalie dei cromosomi sessuali, 8 avevano anomalie degli autosomi, ed uno aveva sia anomalie dei cromosomi sessuali che degli autosomi. Dei 430 bambini concepiti con ICSI, 388 sono stati concepiti con spermatozoi dell'eiaculato; 14 di questi (3,6%) avevano un cariotipo anomalo. I restanti 42 bambini sono stati concepiti con spermatozoi ottenuti chirurgicamente, e uno di questi (2,4%) aveva un cariotipo anomalo. Tutti i 430 bambini concepiti naturalmente, invece, avevano cariotipi normali; la differenza tra il gruppo di bambini nati da ICSI e quello dei bambini nati da concepimento naturale, è perciò significativa – test del X^2 , 15,66; $p < 0,001$; RR, 31,0 (95% CI 1,86-516,45). È stato eseguito il cariotipo su 6 coppie di genitori i cui figli avevano un cariotipo anomalo (gli altri genitori non hanno voluto sottoporsi all'esame): 2 bambini avevano anomalie dei cromosomi sessuali e 4 degli autosomi. L'indagine citogenetica sui padri ha dimostrato che nessuno dei padri aveva la stessa anomalia osservata nei figli, ma che 2 dei 6 padri avevano traslocazioni autosomiche bilanciate. Gli Autori hanno suggerito che l'aumento dei cariotipi anomali tra i bambini concepiti con la ICSI può essere giustificato dalla iniezione nell'ovocita di spermatozoi anomali dei padri. Tuttavia tale affermazione non appare del tutto giustificata in base ai dati disponibili, poiché non è stato investigato il cariotipo meiotico.

Sempre in merito all'indagine citogenetica nei bambini nati da ICSI, ulteriori contributi provengono da uno studio, condotto in Canada nel periodo compreso tra il 1997 e il 1999²⁶. I metodi di analisi usati in questo studio sono stati: la diagnosi prenatale nelle coppie che sceglievano di sottoporvisi, il prelievo di sangue dal cordone ombelicale a termine di gravidanza in tutti i casi, ed il prelievo di villi coriali e del corion negli aborti. In questo studio, sono stati analizzati i cariotipi di 55 bambini nati vivi dopo concepimento con la ICSI, e di 5 aborti spontanei. L'obiettivo del presente studio era stabilire l'incidenza delle aneuploidie tra i bambini nati da ICSI e confrontarla con quella di altri studi simili e della popolazione generale. Tra tutti i 55 cariotipi analizzati, solo uno è risultato anomalo (47,XX,+21). Tra i 9 aborti spontanei, solo 5 sono stati sottoposti ad indagine citogenetica, e di questi, 2 avevano un cariotipo anomalo: uno era 45,XO, ed

l'altro 45,XY,-21. Successive analisi su questi due casi, hanno portato a scoprire la perdita del cromosoma di origine materna in entrambi, vale a dire del cromosoma X materno nel primo caso e del cromosoma 21 materno nel secondo. Riassumendo, l'incidenza di aneuploidie tra i bambini nati da ICSI in questo studio è pari al 2% (95% CI 0,4-11,8), mentre l'incidenza di anomalie cromosomiche (comprese quelle dei cromosomi sessuali) nella popolazione generale attraverso la diagnosi prenatale è 0,6%. Non sembrano esserci differenze importanti tra l'incidenza di anomalie cromosomiche tra i bambini ICSI in questo studio e quella riportata da altri lavori.

In un lavoro di Causio et al. del 2002²⁷ è stato preso in considerazione il materiale abortivo proveniente da 35 FIVET e 29 ICSI con lo scopo di dimostrare un aumento dell'incidenza delle anomalie cromosomiche tra i concepiti con tecniche di fecondazione *in vitro* da padri infertili. La percentuale dei cariotipi anormali tra i concepiti con la FIVET era paragonabile a quella dei cariotipi anormali dei concepiti con la ICSI (43% contro il 48%), e l'anomalia più frequente è risultata essere la monosomia del cromosoma X (45,X0). Tale differenza non è statisticamente significativa.

Un approfondimento ulteriore al dibattito sulle conseguenze della ICSI, in termini di anomalie cromosomiche, proviene da uno studio di Bonduelle et al. del 2002²⁸. Sono state prese in considerazione 2.622 gravidanze, ottenute con la ICSI dal 1990 al 2001, e sono stati sottoposti ad accertamenti citogenetici 1.586 feti. Tra i 1.586 cariotipi eseguiti, 47 (36 singoli e 11 gemelli) erano anormali (3,0%). 25 anomalie erano comparse *de novo* (1,6%) – 10 anomalie dei cromosomi sessuali e 15 degli autosomi (8 anomalie di numero e 7 di struttura) –, mentre le altre 22 erano state ereditate da uno dei genitori (1,4%). Di queste ultime, 21 erano anomalie bilanciate e una sbilanciata; inoltre, delle 22 anomalie cromosomiche ereditate, 17 erano dovute ad una anomalia cromosomica strutturale presente nel padre.

Come detto sopra, l'1,6% dei bambini nati da ICSI mostrava una anomalia *de novo*, valore significativamente più alto di quello relativo alla popolazione generale (0,45% con $p < 0,001$).

Per quanto riguarda, invece, le anomalie *de novo* di tipo strutturale ne sono state osservate 7, con un'incidenza pari allo 0,4%. Dal confronto di questa percentuale con quella proposta da Hook su 24.951 diagnosi prenatali (0,53% per le anomalie strutturali, delle quali 0,31-0,37% sono ereditate, e 0,16-0,22% sono *de novo*) emerge che esiste un leggero incre-

mento non significativo ($p = 0,021-0,098$) delle anomalie strutturali *de novo* tra i feti concepiti da ICSI rispetto ai dati della letteratura, e che vi è un aumento significativo delle anomalie strutturali ereditate.

L'1,4% di anomalie ereditate è un valore significativamente più alto di quello atteso in base ai dati di analisi prenatali nella popolazione generale (0,29-0,37%) (95% CI 0,87-2,09, $p < 0,001$).

Tale differenza, secondo gli Autori, è essenzialmente imputabile alla presenza di anomalie cromosomiche strutturali costituzionali presenti nei padri affetti da fattore seminale severo.

L'incidenza delle anomalie dei cromosomi sessuali (0,6%) (95% CI 0,30-1,16) era significativamente più alta (circa tre volte) rispetto a quella della popolazione generale secondo Jacobs et al. (1992) (0,19% con $p = 0,002$) e rispetto a quella della popolazione generale secondo Nielsen e Wohlert (1991) (0,23% con $p = 0,006$).

In 338 bambini sottoposti ad esame del cariotipo alla nascita (e non sottoposti a diagnosi prenatale), sono stati trovati 13 cariotipi anormali (3,85%): 7 anomalie cromosomiche *de novo* (2,07%) – 2 anomalie dei cromosomi sessuali (0,59%), 3 anomalie autosomiche numeriche (0,88%), e 2 anomalie autosomiche strutturali (0,59%) – e 6 anomalie cromosomiche ereditate (1,78%).

Il lavoro di Van Steirteghem et al. del 2002²⁹ costituisce una meta-analisi dei dati provenienti da 7 studi diversi sull'aumento delle anomalie cromosomiche in 2.139 cariotipi di bambini nati da ICSI. I cariotipi anormali osservati furono 73 (3,4%), così ripartiti: 42 anomalie cromosomiche *de novo* (2%) (16 dei cromosomi sessuali e 26 degli autosomi) e 31 ereditate (1,4%). Così, l'incidenza delle anomalie dei cromosomi sessuali *de novo* risultava superiore a quella della popolazione generale (0,6% contro 0,2%) e anche l'incidenza delle anomalie autosomiche era superiore a quella della popolazione generale (0,4% contro 0,07%). Inoltre, si osservava un aumento delle anomalie strutturali ereditate.

Nel lavoro di Retzlöff et al. del 2003³⁰, riassumendo i risultati di diverse pubblicazioni, si sottolinea l'incremento delle aneuploidie di cromosomi sessuali in bambini nati da ICSI, in conseguenza dell'aumentata incidenza delle anomalie cromosomiche nei padri con fattore maschile severo. Lo studio di Bonduelle et al. del 1999³¹ pone in risalto che 28 bambini su 1.082 (2,6%) hanno cariotipi anormali e che solo in 10 di questi l'anomalia è ereditata dal padre, ipotizzando così la comparsa *de novo* di anomalie del cariotipo. Infine, non si può escludere che, seppure con

un cariotipo normale, i padri infertili siano portatori di aneuploidie cromosomiche a livello dei gameti, il che provocherebbe un'aumentata incidenza delle anomalie dei cromosomi sessuali nei bambini ICSI. In ogni caso, l'aumentato rischio di anomalie nella prole è generato non dalla tecnica in sé, quanto dalla trasmissione delle anomalie dai padri.

Il lavoro di Jozwiak et al. del 2004³², condotto su 1.136 feti concepiti con ICSI, ha valutato l'incidenza delle anomalie del cariotipo in seguito ad amniocentesi. Delle 735 amniocentesi sottoposte ad indagine citogenetica 17 cariotipi sono risultati anomali (1,4%) e di questi 7 riguardavano i cromosomi sessuali (0,6%) e 10 gli autosomi (0,8%). Considerando le gravidanze singole distinte da quelle gemellari, non vi era differenza nelle anomalie strutturali degli autosomi, nel numero o nella struttura dei cromosomi sessuali e nel numero totale dei cariotipi anomali. Se, invece, venivano prese in esame l'età materna e l'età paterna, nessuna di esse era associata ad aumentata incidenza dei cariotipi anomali. Per quanto riguarda una diversa distinzione dei cariotipi sulla base dei fattori di infertilità, fattori maschili, fattori femminili e infertilità inspiegata, non vi era alcuna differenza tra le categorie suddette per frequenza di cariotipi anomali. Infine, nessuna differenza nell'incidenza delle anomalie dei cariotipi era osservata se si prendevano in considerazione gli spermatozoi eiaculati e quelli testicolari. Tra i cariotipi anomali, 14 erano *de novo* (82,3%) e 3 erano anomalie cromosomiche bilanciate ereditate (17,6%). Delle 3 anomalie ereditate, 2 erano ereditate dal padre, mentre tutte le 14 anomalie *de novo* riguardavano gli autosomi.

I dati riassuntivi relativi all'incidenza delle anomalie cromosomiche e genetiche tra i bambini nati con la ICSI sono esposti nelle Tabelle I e II.

I RISCHI GENETICI

Per quanto riguarda i rischi genetici cui i bambini nati da ICSI sono esposti, Kent-First et al. nel 1996³³ hanno pubblicato un lavoro su 35 bambini maschi nati da ICSI, con lo scopo di evidenziare eventuali trasmissioni delle microdelezioni dell'Y dai padri infertili ai figli o delezioni *de novo*. Il risultato inaspettato fu che 2 (5,7%) dei bambini nati da ICSI erano portatori di microdelezioni, mentre nessuno dei padri aveva evidenziato la stessa anomalia nel sangue periferico. Il gruppo spiegò il risultato sostenendo che la mancanza di microdelezioni in cellule da sangue periferico non esclude l'esistenza di mosaicismi – consistenti in una linea cellulare con Y intatto ed una con Y deleta – e che il mosaicismo può essere associato alla condizione di infertilità maschile.

Le conclusioni del lavoro di Cram et al. del 2000³⁴ sulla trasmissione verticale delle microdelezioni dell'Y, sono molto interessanti. Lo studio è stato condotto su un campione di 86 uomini infertili e sui loro 99 bambini concepiti con la ICSI. Degli 86 uomini studiati, 50 (58%) avevano un difetto idiopatico dei tubuli seminiferi (STF, *seminiferous tubule failure*), e 29 di questi erano oligospermici gravi o azoospermici, mentre i restanti 36 presentavano indicazioni diverse alla ICSI. Poiché non vi è un accordo unanime sul tipo di marcatori da usare per il riconoscimento e la caratterizzazione delle microdelezioni dell'Y, sono stati impiegati a questo scopo quelli più comunemen-

Tab. I. Anomalie cromosomiche nei bambini nati da ICSI. *Chromosomal anomalies in children born through ICSI.*

Autore	Totale cariotipi	Cariotipi normali	Cariotipi anomali	Cariotipi anomali pop. gen.	Anomalie crom. sess. pop. gen.	Anomalie crom. sess. pop. gen.	Anomalie autosomi	Anomalie autosomi pop. gen.
Bonduelle et al., 1999	1082	1054 (97,4%)	28 (2,6%)					
Aboulghar et al., 2001	430	415 (96,5%)	15 (3,5%)		6 (1,4%)		8 + 1 ¹ (2,1%)	
Lamet al., 2001	55	54 (98,15%)	1 (1,85%)	0,6%	0		1 (1,85%)	
Bonduelle et. al., 2002	338	325 (96,15%)	13 (3,85%)		2 (0,6%)	0,19-0,23 ²	5 ³ + 6 ⁴ (3,25%)	0,16-0,37%
Jozwiak et al., 2004	735	718 (98,6%)	17 (1,4%)					

¹ = Questo cariotipo presenta anomalie dei cromosomi sessuali e degli autosomi; ² = Secondo Jacobs (1992) e secondo Nielsen-Wolhert (1991);

³ = Anomalie degli autosomi *de novo*; ⁴ = Anomalie degli autosomi ereditate.

Tab. II. Anomalie cromosomiche in bambini nati da ICSI distinte in de novo ed ereditate. *Chromosomal anomalies in children born through ICSI divided in de novo and inherited.*

Autore	Totale cariotipi	Anomalie de novo		Anomalie de novo pop. gen.	Anomalie ereditate		Anomalie ereditate pop. gen.
		Autosomi	Cromosomi sessuali		Autosomi	Cromosomi sessuali	
Bonduelle et al., 2002	338	15 (1%)	10 (0,6%)	0,45%	22 (1,4%)	0	0,29-0,37%
Van Steirteghem et al., 2002	2139	26 (1,2%)	26 (0,8%)	0,5%	31 (1,5%)		0,4%
Jozwiak et al., 2004	735	7 (0,6%)	7 (0,6%)		3 (0,2%)	0	

te usati. L'incidenza delle microdelezioni dell'Y negli uomini con STF e oligospermia severa era il 7%, in accordo con le percentuali riportate da altri lavori; nessuna microdelezione è stata rilevata tra gli uomini infertili con difetti spermatogenetici meno severi. Due uomini avevano una delezione che si estendeva dal gene RBM1 fino alla regione eterocromatica, dimostrando così l'esistenza di una delezione ininterrotta. In entrambi i casi, ciascuno dei due figli, aveva ereditato la stessa identica delezione del padre, rivelando l'esistenza di una trasmissione verticale stabile delle microdelezioni dell'Y attraverso l'uso della ICSI. Anche questi risultati sono in accordo con altri pubblicati da studi recenti. Infine, la ricerca delle microdelezioni dell'Y nei bambini nati da uomini senza microdelezioni, non ha evidenziato nessuna delezione *de novo*: questo potrebbe dimostrare che le microdelezioni dell'Y raramente sono conseguenza della ICSI.

Il lavoro di Buch et al. del 2004³⁵, riporta i risultati di uno studio su 96 nati da ICSI tra il 1996 ed il 2000, ed i bambini sono stati divisi in due gruppi. Il gruppo A comprendeva 46 bambini i cui padri avevano un'oligospermia severa o un'azoospermia nonostruttiva, mentre il gruppo B consisteva di 50 bambini i cui padri erano portatori di una moderata oligospermia, di azoospermia ostruttiva, criptorchidismo o seme normale. La percentuale delle microdelezioni del

cromosoma Y tra i padri del I gruppo era del 5,1%, a differenza di quelli del II gruppo, in cui non erano state rilevate microdelezioni del cromosoma Y. Attraverso uno screening genetico molecolare dei bambini concepiti con la ICSI, è emerso che nessuno di loro era portatore di nuove microdelezioni, dimostrando così che l'incidenza delle mutazioni *de novo* che coinvolgono il cromosoma Y è estremamente bassa e, comunque, non legata alla tecnica.

I dati relativi alla trasmissione delle microdelezioni dell'Y ai bambini nati con la ICSI, sono riassunti nella Tabella III.

Talvolta, in assenza di spermatozoi eiaculati, si esegue la ICSI usando spermatozoi testicolari o epididimari; non è ancora del tutto chiaro se il processo di imprinting per questi spermatozoi sia ancora avvenuto. Così, il rischio genetico conseguente alla ICSI, potrebbe consistere anche nella comparsa di anomalie dell'imprinting nei bambini concepiti con questa tecnica.

Tutti gli individui ereditano per ciascun gene un allele di origine paterna ed uno di origine materna; l'imprinting consiste nella modificazione (metilazione) epigenetica di uno di questi alleli, grazie alla quale solo uno di essi verrà espresso nell'individuo. Al momento, sono stati identificati 75 geni dell'imprinting nell'uomo e sono conosciute diverse malattie legate ad un difetto di imprinting di questi geni³⁶. I geni che

Tab. III. Microdelezioni dell'Y nei bambini nati da ICSI. *Y-chromosome microdeletions in children born through ICSI.*

Autore	Numero dei padri/ numero dei bambini	Portatori di microdelezioni Y tra i padri	Portatori di microdelezioni Y tra i figli
Kent-First et al., 1996	-/35	0	2 (5,7%)
Cram et al., 2000	86/99	2 (2,3%) (RBM1-etero)	2 (2%) (RBM1-etero)
Buch et al., 2004	96/96	5 (5,1%)	0

sono sottoposti a questa modificazione giocano un ruolo importante nella crescita dell'embrione e nello sviluppo dell'individuo; si sospetta che abbiano un ruolo nei disordini neurologici come l'autismo e la schizofrenia e che siano anche coinvolti nell'insorgenza dei tumori. Le sindromi causate da anomalie dell'imprinting comprendono, tra le altre, la Silver-Russell, la Albright, la Prader-Willi, la Angelman, la Beckwith-Wiedeman³⁷.

Alcuni Autori³⁸ sostengono che la ICSI potrebbe interferire negativamente sulla capacità dell'ovocita di "guidare" il processo dell'imprinting.

Anche secondo Marijo Kent First³⁹ vi sono diverse evidenze sulla nascita di bambini concepiti con la ICSI e affetti dalla sindrome di Angelman (AS).

Un diverso punto di vista è esposto nel lavoro di Manning et al. del 2000⁴⁰, in cui è oggetto di studio la regione 15q11-q13, ovvero la regione coinvolta nei difetti di imprinting associati alla AS e di Prader-Willi (PWS).

La AS consiste in un disordine neurologico, caratterizzato da ritardo mentale, ridotto sviluppo motorio, scarso equilibrio accompagnato da movimenti traballanti ed assenza di linguaggio; la PWS consiste in ritardo psico-motorio, disturbi comportamentali, ipogonadismo ipogonadotropo e probabile insorgenza di complicanze, quali l'insufficienza cardiaca ed il diabete.

Dopo la nascita, 92 bambini concepiti con la ICSI sono stati sottoposti ad un prelievo di sangue periferico. Lo studio molecolare della regione associata ai difetti di imprinting suddetti, non ha rivelato alcuna alterazione della metilazione in nessuno dei 92 bambini; nessun sintomo clinico era evidente nei bambini nati con la ICSI, quindi, non può essere ritenuta responsabile di un rischio aumentato di anomalie dell'imprinting.

In un lavoro del 2002, Cox et al.⁴¹ presentano due casi di AS dopo l'applicazione della ICSI; gli Autori, facendo riferimento al fenomeno della riprogrammazione estesa del genoma, in cellule germinali ed in embrioni nei primi stadi di crescita, ed a diverse evidenze sperimentali sulla estrema vulnerabilità del processo a fattori esterni, suggeriscono che la ICSI potrebbe interferire su questo delicato processo. Vista la rarità della sindrome (cioè, la non casualità), la possibilità di un evento epigenetico post-zigotico, l'invasività della tecnica e le condizioni di crescita dell'embrione *in vitro* (quindi fattori esterni), suggeriscono che la ICSI potrebbe essere responsabile della comparsa dei due casi.

La sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS) è carat-

terizzata da macrosomia, macroglossia, difetti cardiaci e della parete addominale, cancro embrionale ed è spesso causata da difetti epigenetici dell'imprinting.

Maier et al. nel 2003⁴² hanno pubblicato un lavoro su 149 bambini affetti da BWS: 6 di questi (4%) sono stati ottenuti grazie a tecniche di fecondazione assistita. Nel Regno Unito sono nati 43.074 bambini dal 1995 al 2000 con la fecondazione assistita, mentre il numero totale dei nati è stato 4.320.482: questo indica che i nati da IVF sono quasi l'1%. Se la proporzione tra nati da IVF e concepiti naturalmente fosse la stessa, la frequenza attesa di bambini nati con queste tecniche sarebbe 1,7252 su 149 bambini affetti da BWS. In realtà sono stati osservati 6 bambini nati con l'aiuto della FIVET o della ICSI (circa 4 volte di più). Poiché la frequenza della BWS nella popolazione generale è pari a 1,3 su 100.000 nati vivi, per gli Autori l'associazione tra le tecniche IVF e i disordini dell'imprinting non è casuale.

Il lavoro di DeBaun et al. del 2003⁴³ fornisce un'altra importante evidenza dell'associazione delle tecniche di fecondazione assistita con la BWS. Sono riportati 7 casi sporadici di bambini concepiti con la ICSI o la FIVET tra quelli affetti da BWS. 3 sono stati identificati dal *Washington University BWS Registry* a partire dal 2001 e 4 dall'*NCI BWS Registry*. Sulla base del primo registro, la prevalenza di bambini nati da tecniche di fecondazione assistita è 4,6% (cioè 3 su 65), mentre negli Stati Uniti, secondo dati del 1999, lo 0,76% delle nascite risulta da tecniche di fecondazione assistita. L'incidenza della BWS tra i bambini nati con tali tecniche risulta circa 6 volte superiore rispetto a quella della popolazione generale. Il lavoro di Lidegaard et al. del 2005³⁶, che fa riferimento al *National IVF Registry* danese introdotto nel 1994, comprende 442.349 bambini concepiti naturalmente come gruppo di controllo e 6.052 bambini concepiti con la fecondazione *in vitro* dal 1995 al 2001. Dei 6.052 nati da IVF, nessuno ha evidenziato anomalie dell'imprinting, mentre nel gruppo dei bambini concepiti naturalmente ci sono stati 54 casi di malattie dell'imprinting: quindi si sarebbe atteso almeno un caso tra gli IVF. I risultati dello studio non evidenziano, perciò, un incremento delle forme di cancro, delle malattie mentali, delle sindromi o delle alterazioni dello sviluppo nei bambini concepiti con fecondazione *in vitro* rispetto al gruppo di controllo, bensì un aumento dell'80% di paralisi cerebrale nei bambini nati da gravidanze singole.

Di contro, il lavoro di Ludwig et al. del 2005⁴⁴, mette in evidenza un aumento dei difetti di imprinting nei bambini con AS nati da coppie con problemi di

infertilità. Se l'incidenza dei difetti di imprinting è il 4% tra le AS, il tasso delle stesse anomalie tra le coppie subfertili, che si siano sottoposte o no a trattamenti per la cura della infertilità, diventa il 25%.

Conclusioni

I criteri eterogenei con cui sono stati impostati i diversi lavori non rendono semplice un confronto diretto e impediscono spesso di trarre conclusioni significative.

Per quanto riguarda le conseguenze cromosomiche nei bambini nati con la ICSI, gli studi citati sono concordi nell'evidenziare un aumento dell'incidenza delle anomalie cromosomiche, in particolare dei cromosomi sessuali, dovute all'iniezione di spermatozoi portatori di anomalie.

Questo è ciò che emerge dallo studio di Aboulghar²⁴ per il quale è invece da sottolineare che l'incidenza dei cariotipi anomali nel gruppo di controllo è pari a zero e che qualunque incidenza non nulla dei cariotipi anomali nel gruppo dei nati con la ICSI sarebbe stata da interpretare come differenza statisticamente significativa.

In questo studio e in quello di Jozwiak et al.³² la ICSI è eseguita per infertilità maschile ma anche per infertilità femminile o per infertilità idiopatica, e nei casi di ICSI per alterazioni del liquido seminale, manca una definizione precisa di fattore maschile. La qualità dei dati che specificano e meglio definiscono il fattore maschile nei due lavori ed in quello di Lam et al.²⁶ sembra essere lontana da quella dei dati di Bonduelle et al.²⁸.

In nessuno degli studi citati è stato eseguito uno studio genetico degli spermatozoi stessi, quindi non sappiamo cosa sia successo a livello meiotico paterno.

Questa informazione è molto importante, in quanto un cariotipo costituzionale paterno normale non indica necessariamente l'assenza delle anomalie cromosomiche o genetiche nei genitori, che potrebbero essere presenti a livello della gonade, come sostenuto da Jozwiak et al.³². Se fossero disponibili queste informazioni, forse molte delle anomalie *de novo* non sarebbero tali, ma semplicemente ereditate.

Inoltre, all'incremento delle anomalie cromosomiche può contribuire il fattore dell'età materna, in quanto le donne che si rivolgono alla fecondazione *in vitro* presentano un rischio aumentato di produrre ovociti portatori di aneuploidie^{16 17}.

Per quanto riguarda la trasmissione dei difetti genetici, il lavoro di Buch et al. del 2004³⁵ sostiene l'as-

senza di microdelezioni *de novo* del cromosoma Y e che la ICSI è da ritenere, per questo, tecnica sicura.

Kent-First et al.³³ mettono in evidenza la comparsa nei figli di microdelezioni assenti nei padri, ma aggiungono che la condizione di infertilità nel maschio può essere associata all'esistenza di mosaicismi, cioè della coesistenza di una linea cellulare con Y intatto e di una con Y deleto, e spiegare così le microdelezioni *de novo*.

Infine, Cram et al.³⁴ riportano casi di trasmissione verticale delle microdelezioni dell'Y.

La conclusione potrebbe essere che nei padri l'indagine genetica su sangue periferico delle microdelezioni dell'Y non è sufficiente a chiarirne l'esistenza o meno e che quando la microdelezione è presente può essere trasmessa verticalmente, dal padre al figlio. In ogni caso, la ICSI non è responsabile della comparsa della anomalia, ma, semmai, ne rende possibile la trasmissione.

Infine, il sospetto che la ICSI aumenti le anomalie dell'imprinting nei nati con questa tecnica è, per molti Autori, fondato.

Cox et al.⁴¹, Kent First³⁹, Maher et al.⁴² e DeBaun et al.⁴³ sostengono che la ICSI può essere responsabile di questo, mentre Manning et al.⁴⁰ non riportano casi di anomalie dell'imprinting come conseguenza della tecnica.

Cox et al.⁴¹ considerano le conseguenze della ICSI, Maher et al.⁴² e DeBaun et al.⁴³ valutano le conseguenze sia della ICSI, sia della FIVET. Questo induce a pensare che i passaggi delle tecniche che provocano un aumento dei casi di anomalie dell'imprinting non siano limitati solo alla ICSI ma riguardino anche la FIVET, come le condizioni di coltura degli ovociti *in vitro* o la durata dell'esposizione a sostanze specifiche contenute nei terreni di coltura.

Inoltre, l'uso di cellule germinali immature (gli spermatidi) ed il trasferimento citoplasmatico degli ovociti possono alterare il sottile equilibrio che permette il fenomeno dell'imprinting.

In particolare, gli spermatidi rappresentano cellule abbastanza diverse dagli spermatozoi, da un punto di vista epigenetico³⁷, in quanto possiedono una diversa condizione di imprinting.

L'impiego di spermatidi al posto degli spermatozoi potrebbe condurre ad anomalie dell'imprinting nei feti concepiti con la ICSI, ma tali conseguenze saranno valutabili maggiormente quando si avrà un numero superiore di casi.

Il lavoro di Lidegaard et al. del 2005³⁶ è il primo lavoro dedicato alle malattie da anomalie dell'imprinting su una popolazione di casi numericamente con-

sistente. Sebbene non sia specificato quanti dei cicli considerati siano dovuti alla ICSI e quanti alla FIVET e sebbene lo scopo del presente lavoro sia quello di identificare le conseguenze della sola tecnica ICSI, è importante ricordare che lo studio non evidenzia differenze statisticamente significative dell'incidenza dei difetti dell'imprinting tra il gruppo dei nati da FIVET e quello dei nati da ICSI.

L'aumento dell'incidenza delle paralisi cerebrali, riportato dallo studio di Lidegaard nei bambini nati grazie alla fecondazione *in vitro* da gravidanze singole, può essere spiegato, secondo gli Autori, innanzitutto dal fatto che le malattie da imprinting verrebbero classificate non come tali ma come paralisi cerebrale, con l'aumento dell'età materna, con la nascita pretermine, ed infine, con la manifestazione della paralisi cerebrale nei casi in cui il bambino nato è sopravvissuto alla morte in utero del gemello. Ciascuna di queste spiegazioni – tranne l'ultima – è in sé insufficiente a spiegare un dato tanto importante.

In conclusione, la ICSI, fatta eccezione per il fenomeno dell'imprinting, viene ritenuta non responsabile dell'incremento delle anomalie cromosomiche e genetiche, ma semplicemente un mezzo attraverso cui tali anomalie si trasmettono alla prole.

Questo aspetto, tuttavia, non è di secondaria importanza: la coppia che deve ricorrere alla ICSI deve es-

sere consapevole del rischio aumentato di concepire figli con anomalie cromosomiche o genetiche. Si è più volte fatto riferimento alla necessità di valutare l'aspetto bio-molecolare dell'indagine genetica sui singoli spermatozoi, anche nei padri normospermici. Nessun protocollo diagnostico, infatti, prevede al momento che siano eseguite simili indagini sugli spermatozoi, anche se una simile informazione potrebbe risultare utile per completezza di diagnosi e non per una concreta applicazione terapeutica (cioè, gli spermatozoi indagati non potrebbero essere impiegati eventualmente per una iniezione intracitoplasmatica). La consulenza andrologica approfondita permette di conoscere sia la condizione di infertilità del maschio sia, attraverso un trattamento adeguato, il miglioramento della dispermia e, dove possibile, un ridotto ricorso alla ICSI. La consulenza genetica consente la conoscenza dell'assetto cromosomico e genetico paterno attraverso un'attenta analisi bio-molecolare, portando a conoscenza la coppia delle problematiche maschili ereditabili. Poiché esiste il sospetto che anche dietro un maschio infertile apparentemente normale vi sia una condizione genetica anomala, è consigliabile estendere lo studio del profilo genetico a tutti quei pazienti che hanno un cariotipo costituzionale normale, pur con i limiti di applicazione sopra ricordati.

Bibliografia

- ¹ Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. *Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte*. Lancet 1992;340:17-8.
- ² Sutcliffe AG, Taylor B, Saunders K, Thornton S, Lieberman BA, Grudzinskas JG. *Outcome in the second year of life after in vitro fertilization by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study*. Lancet 2001;357:2080-4.
- ³ Patrizio P, Guelman V. *Alterazioni genetiche e malformazioni congenite in bambini nati con tecniche di riproduzione assistita (A.R.T.). Fisiopatologia delle funzioni gonadiche*. Padova: Cleup Editrice 2001, pp. 373-380.
- ⁴ Sepulveda J, Patrizio P. *Congenital Malformations and chromosome anomalies in children of assisted reproduction*. Padova: Cleup Editrice 2005, pp. 367-380.
- ⁵ Dumoulin JM, Coonen E, Bras M, Bergers-Janssen JM, Ignoul-Vanvuchelen RC, van Wissen LC, et al. *Embryo development and chromosomal anomalies after ICSI: effect of the injection procedure*. Hum Reprod 2001;16:306-12.
- ⁶ Asada Y, Baka SG, Hodgen GD, Lanzendorf SE. *Evaluation of meiotic spindle apparatus in oocytes undergoing intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril 1995;64:376-81.
- ⁷ Blake M, Garrisi J, Tomkin G, Cohen J. *Sperm deposition site during ICSI affects fertilization and development*. Fertil Steril 2000;73:31-7.
- ⁸ Terada Y, Luetjens CM, Sutovsky P, Schatten G. *Atypical decondensation of the sperm nucleus, delayed replication of the male genome, and sex chromosome positioning following intracytoplasmic human sperm injection (ICSI) into golden hamster eggs: does ICSI itself introduce chromosomal anomalies?* Fertil Steril 2000;74:454-60.
- ⁹ Griffiths TA, Murdoch AP, Herbert M. *Embryonic development in vitro is compromised by the ICSI procedure*. Hum Reprod 2000;15:1592-6.
- ¹⁰ Miller JE, Smith T. *The effect of intracytoplasmic sperm injection and semen parameters on blastocyst development in vitro*. Hum Reprod 2001;16:918-24.
- ¹¹ Dumoulin JC, Coonen E, Bras M, van Wissen LC, Ignoul-Vanvuchelen R, Bergers-Jansen JM, et al. *Comparison of in vitro development of embryos originating from either conventional in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod 2000;15:402-9.
- ¹² Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga JM, Chouraqui A, Tesquier L, Serkine AM. *Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility*. Hum Reprod 2002;17:362-9.
- ¹³ Macas E, Imthurn B, Borsos M, Rosselli M, Maurer-Major E, Keller PJ. *Impairment of the developmental potential of frozen-thawed human zygotes obtained after intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril 1998;69:630-5.
- ¹⁴ Aytoz A, Van den Abbeel E, Bonduelle M, Camus M, Joris H,

- Van Steirteghem A, et al. *Obstetric outcome of pregnancies after the transfer of cryopreserved and fresh embryos obtained by conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod 1999;14:2916-24.
- ¹⁵ Akutsu H, Tres LL, Tateno H, Yanagimachi R, Kierszenbaum AL. *Offspring from normal mouse oocytes injected with sperm heads from the azh/azh mouse display more severe sperm tail abnormalities than the original mutant*. Biol Reprod 2001;64:249-56.
- ¹⁶ Sonntag B, Meschede D, Ullmann V, Gassner P, Horst J, Nieschlag E, et al. *Low-level sex chromosome mosaicism in female partners of couples undergoing ICSI therapy does not significantly affect treatment outcome*. Hum Reprod 2001;16:1648-52.
- ¹⁷ Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Briault S, et al. *Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men*. Hum Reprod 2001;16:82-90.
- ¹⁸ Dohle GR, Halley DJ, Van Hemel JO, van den Ouwel AM, Pieters MH, Weber RF, et al. *Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia*. Hum Reprod 2002;17:13-6.
- ¹⁹ Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM. *Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques*. Hum Reprod 2005;20:437-42.
- ²⁰ Oliva R, Margarit E, Balleca JL, Carrio A, Sanchez A, Mila M, et al. *Prevalence of Y chromosome microdeletion in oligospermic and azospermic candidates for intracytoplasmic injection*. Fertil Steril 1998;70:506-10.
- ²¹ Foresta C, Moro E, Ferlin A. *Y Chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis*. Endocr Rev 2001;22:226-39.
- ²² Aran B, Blanco J, Vidal F, Vendrell JM, Egozcue S, Barri PN, et al. *Screening for abnormalities of chromosomes X, Y, and 18 and for diploidy in spermatozoa from infertile men participating in an in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection program*. Fertil Steril 1999;72:696-701.
- ²³ Levron J, Aviram-Goldring A, Madgar I, Raviv G, Barkai G, Dor J. *Studies on sperm chromosomes in patients with severe male factor infertility undergoing assisted reproductive technology treatment*. Mol Cell Endocrinol 2001;183:S23-8.
- ²⁴ Aboulghar H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G, Amin Y, Al-Inany H. *A prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril 2001;76:249-53.
- ²⁶ Lam R, Ma S, Robinson WP, Chan T, Yuen BH. *Cytogenetic investigation of fetuses and infants conceived through intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril 2001;76:1272-5.
- ²⁷ Causio F, Fischetto R, Sarcina E, Geusa S, Tartagni M. *Chromosome analysis of spontaneous abortions after in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI)*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002;105:44-8.
- ²⁸ Bonduelle M, Van Assche E, Joris H, Keymolen K, Devroey P, Van Steirteghem A, et al. *Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters*. Hum Reprod 2002;17:2600-14.
- ²⁹ Van Steirteghem A, Bonduelle M, Devroey P, Liebaers I. *Follow-up of children born after ICSI*. Hum Reprod Update 2002;8:111-6.
- ³⁰ Retzliff MG, Hornstein MG. *Is intracytoplasmic sperm injection safe?* Fertil Steril 2003;80:851-9.
- ³¹ Bonduelle M, Camus M, De Vos A, Staessen C, Tournaye H, Van Assche E, et al. *Seven years of intracytoplasmic and follow-up of 1987 subsequent children*. Hum Reprod 1999;14:243-64.
- ³² Jozwiak EA, Ulug U, Mesut A, Erden HF, Bahceci M. *Prenatal karyotypes of fetuses conceived by intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril 2004;82:628-33.
- ³³ Kent-First MG, Kol S, Muallem A, Ofir R, Manor D, Blazer S, et al. *The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers*. Mol Hum Reprod 1996;2:943-50.
- ³⁴ Cram DS, Ma K, Bhasin S. *Y chromosome analysis of infertile men and their sons conceived through intracytoplasmic sperm injection: vertical transmission of deletions and rarity of de novo deletions*. Fertil Steril 2000;74:909-15.
- ³⁵ Buch B, Galan JJ, Lara M, Real LM, Martinez-Moya M, Ruiz A. *Absence of de novo Y-chromosome microdeletions in male children conceived through intracytoplasmic sperm injection*. Fertil Steril 2004;82:1679-80.
- ³⁶ Lidegaard Ø, Pinborg A, Andersen AN. *Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study*. Hum Reprod 2005;10:950-4.
- ³⁷ De Rycke M, Liebaers I, Van Steirteghem A. *Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies*. Hum Reprod 2002;17:2487-94.
- ³⁸ Bonduelle M, Wilikens A, Buysse A, Van Assche E, Devroey P, Van Steirteghem AC, et al. *A follow-up study of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with epididymal and testicular spermatozoa and after replacement of cryopreserved embryos obtained after ICSI*. Hum Reprod 1998;13(Suppl 1):196-9.
- ³⁹ Kent-First M. *Genetic Risk of intracytoplasmic injection of spermatozoon and its precursors*. Tratto da "Il laboratorio IVF - stato dell'arte e controversie". In: Atti del III Meeting, Percorsi editoriali 1999.
- ⁴⁰ Manning M, Lissens W, Bonduelle M, Camus M, De Rijcke M, Liebaers I, et al. *Study of DNA-methylation patterns at chromosome 15q11-q13 in children born after ICSI reveals no imprinting defects*. Mol Hum Reprod 2000;6:1049-53.
- ⁴¹ Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, et al. *Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects*. Am J Hum Genet 2002;71:162-4.
- ⁴² Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, Luharia A, Cooper W, Cole TR, et al. *Beckwith-Wiedeman Syndrome and assisted reproduction technology (ART)*. J Med Genet 2003;40:62-4.
- ⁴³ DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. *Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann Syndrome and epigenetic alterations of LIT1 e H19*. Am J Hum Genet 2003;72:156-60.
- ⁴⁴ Ludwig M, Katalinic A, Gross S, Sutcliffe A, Varon R, Horsthemke B. *Increased prevalence of imprinting defects in patient with Angelman syndrome born to subfertile couples*. J Med Genet 2005;42:289-91.

Domanda 1: È ormai opinione comune che la ICSI sia una tecnica che espone a due tipi di rischi: procedurali, cioè legati all'eliminazione dei meccanismi di selezione naturale dei gameti, alla fertilizzazione di ovociti di scarsa qualità, alla creazione di ambienti ormonali non fisiologici, alla rottura della membrana citoplasmatica dell'ovocita, alla quantità di citoplasma aspirato nel corso della microiniezione, all'iniezione di spermatozoi anomali ecc. ecc., e i rischi legati non alla tecnica ma alla qualità degli spermatozoi iniettati e a quella degli ovociti a disposizione come conseguenza dell'eziologia dell'infertilità. Le conseguenze della tecnica ICSI, relative ai rischi procedurali o all'eziologia dell'infertilità, sono immediatamente visibili:

- a. solo sulla frequenza dell'impianto
- b. solo sulla percentuale delle fertilizzazioni
- c. solo sulla divisione embrionaria
- d. sulla percentuale delle fertilizzazioni e delle divisioni embrionarie, ma anche sul numero e la qualità delle blastocisti ottenute

Domanda 2: Cosa vuol dire che i bambini nati con la ICSI sono esposti a rischi cromosomici?

- a. che i loro cromosomi possono essere alterati dalla microiniezione intracitoplasmatica
- b. che possono essere portatori di anomalie genetiche in conseguenza della ICSI
- c. che i loro cromosomi potrebbero avere anomalie già presenti nei padri e trasmesse grazie alla ICSI

Domanda 3: Nel lavoro di Bonduelle et al. del 2002²⁸, si fa riferimento ai 1586 cariotipi eseguiti su bambini nati da ICSI. Le anomalie strutturali de novo riguardanti gli autosomi osservate nello studio erano:

- a. 0,53%
- b. 0,31%
- c. 0,37%
- d. 0,16%
- e. 0,4%

Domanda 4: Esistono diverse evidenze sulla trasmissione "verticale", cioè di padre in figlio, delle microdelezioni del cromosoma Y grazie alla ICSI. Nello studio di Cram et al. del 2000³⁴ l'incidenza delle microdelezioni dell'Y negli uomini con STF (difetto idiopatico dei tubuli seminiferi o *seminiferous tubule failure*) e oligospermia severa era il 7%, in accordo con le percentuali riportate da altri lavori. Due di essi avevano avuto figli portatori della stessa identica delezione del padre. Che tipo di delezione era stata osservata tra i figli di uomini infertili ma con difetti spermatogenetici meno severi?

- a. una delezione più estesa
- b. una delezione più piccola
- c. nessuna delezione, in quanto i padri non ne erano portatori, e dimostrando così che la ICSI non dà delezioni de novo
- d. un'anomalia cromosomica

Domanda 5: Il fenomeno dell'imprinting consiste in:

- a. ereditare un cromosoma dal padre ed un cromosoma dalla madre
- b. ereditare sempre lo stesso cromosoma dalla madre
- c. ereditare un allele modificato della madre
- d. una modificazione epigenetica di un allele, tale da alterarne l'espressione nell'individuo

Le azoospermie ostruttive: ricanalizzazioni delle vie seminali, recupero chirurgico di spermatozoi e loro utilizzo in cicli ICSI

Surgical treatment methods for obstructive azoospermia and surgical retrieve of spermatozoa for ICSI

G. BERETTA

Centro Italiano Fertilità e Sessualità, Firenze

Parole chiave: Azoospermia ostruttiva, Metodiche chirurgiche ricostruttive, TESA, TESE, ICSI

Key words: *Obstructive Azoospermia, Surgical reconstruction treatment, TESA, TESE, ICSI*

Riassunto

L'azoospermia è una dispermia grave caratterizzata dalla totale assenza di spermatozoi nel liquido seminale e rappresenta la più severa manifestazione di infertilità maschile. Essa è presente nel 15-20% dei pazienti con problemi a riprodursi. Le cause di una azoospermia possono comprendere patologie congenite od acquisite di tipo ostruttivo a livello delle vie seminali oppure deficit della spermatogenesi. Le nuove tecniche di riproduzione assistita come la fecondazione *in vitro* e l'iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi, hanno modificato l'approccio diagnostico e terapeutico in questo specifico settore della medicina della riproduzione. Il trattamento chirurgico ricostruttivo mantiene comunque, in alcune situazioni ben selezionate, le sue indicazioni positive anche sotto un profilo costo-beneficio. Alla luce di queste considerazioni l'Autore rivaluta le attuali indicazioni terapeutiche nelle azoospermie ostruttive.

Summary

The most severe expression of male infertility is azoospermia, where no sperm is present in the ejaculate. Azoospermia is found in 15-20% of men evaluated for infertility. Causes of azoospermia include congenital and acquired reproductive tract obstruction as well as spermatogenic failure. The division of azoospermia into obstructive and non obstructive categories allows better determination of specific treatment options available to a particular patient. The approach to azoospermic patient has changed significantly since the introduction of sperm retrieval techniques and assisted reproduction, especially IVF/ICSI. Nevertheless, specific treatment of azoospermia could be not only successful but also a cost-effective option. Against this background, the Author reviewed the past and present status of the treatment of obstructive male infertility.

L'azoospermia è la completa assenza di spermatozoi nell'eiaculato ed è riscontrabile nel 15-20% degli uomini infertili. Questa diagnosi si pone dopo aver eseguito almeno due esami seminali in cui si sia verificata l'assenza di spermatozoi anche nel sedimento dopo centrifugazione a 3.000 g/min.

Le cause di una azoospermia possono essere congenite o acquisite e rientrare nelle tre classiche categorie: pre-testicolari, testicolari e post-testicolari. Le azoospermie ostruttive appartengono a quest'ultima categoria e rappresentano circa il 40% di tutte le situazioni di azoospermia. Possono distinguersi in prossimali o distali. Secondo le linee guida dell'*European Association of Urology* (EAU) quelle prossimali interessano le vie seminali intratesticolari, l'epididimo e il deferente pre-in-

guinale mentre, quelle distali, il deferente distale ed il tratto ampullo-vescicolo-duttale¹.

L'ostruzione epididimaria è la causa più frequente di azoospermia ostruttiva. È ben nota l'associazione tra l'assenza bilaterale congenita degli epididimi e dei vasi deferenti (CBAVD) e la presenza di mutazioni del gene CFTR². Questo è localizzato sul cromosoma 7q31.1-31.2 e la mutazione più frequente è rappresentata dalla delezione di una fenilalanina in posizione 508 (DF508), ma esistono più di 800 mutazioni diverse. L'agenesia bilaterale dei vasi deferenti rappresenta in molti casi una forma lieve o incompleta di fibrosi cistica, infatti circa il 70-80% di questi soggetti sono eterozigoti o eterozigoti composti per una mutazione CFTR. Anche l'agenesia monolaterale dei deferenti (CUAVD) può esse-

re associata a mutazioni CFTR. Lo screening della CFTR nei soggetti infertili con CBAVD o CUAVD va quindi sempre eseguito e, se stiamo valutando una coppia candidata a tecniche di riproduzione assistita, il test deve essere fatto sia nel maschio che nella partner femminile e va sempre consigliata una consulenza genetica. Le ostruzioni epididimarie acquisite sono esiti di una flogosi epididimaria acuta o subcronica; nell'anziano prevalgono le infezioni da E. Coli, mentre nei giovani è più frequente la Clamidia o il Gonococco. La vasectomia è la più frequente causa di ostruzione acquisita del deferente, soprattutto negli Stati Nord Americani dove questa pratica è largamente utilizzata come pianificazione familiare. Cause meno frequenti sono gli esiti cicatriziali di una pregressa tubercolosi delle vie urinarie che può colpire la prostata, le vescicole seminali, i deferenti e gli epididimi. Altre cause da ricordare sono gli effetti iatrogeni legati a procedure chirurgiche eseguite soprattutto a livello inguino-scrotale³.

Tra le cause ostruttive distali ricordiamo le malformazioni congenite come l'ipoplasia o l'agenesia delle vescicole seminali, la presenza di cisti mulleriane e del seno urogenitale, cisti intra-prostatiche e vescicolari. Tra le forme acquisite le ostruzioni post-flogistiche o post-litiasiche dei dotti eiaculatori.

Nell'esame iniziale del paziente azoospermico, una accurata anamnesi, la valutazione clinica completa del paziente, le sue caratteristiche sessuali secondarie, il volume e la consistenza testicolare, la morfologia e la conformazione dell'epididimo e la presenza o meno del deferente possono già orientare sulla causa di una azoospermia^{4,5}. La determinazione ematochimica dell'FSH è di solito normale nelle situazioni di azoospermia ostruttiva anche se un FSH normale non garantisce sempre la presenza di una normale spermatogenesi.

All'esame obiettivo le strutture epididimarie e deferenziali sono facilmente palpabili nello scroto; la loro assenza indirizza già verso una diagnosi di agenesia mono- o bilaterale dell'epididimo e/o del deferente. Una valutazione ecografica potrà confermare successivamente la diagnosi e valutare eventuali malformazioni delle vie uro-seminali associate.

Nella scelta del trattamento è importante rapportarsi alla situazione clinica di entrambi i partner dato che altri fattori, sia quelli collegati all'ostruzione che quelli indipendenti da questa, possono giocare un ruolo importante. La valutazione clinica della partner femminile è importante e deve essere tenuta sempre in considerazione nell'orientarsi fra i differenti tipi di trattamento. In particolare l'età della partner femmi-

nile influenza in modo determinante le possibilità di ottenere una gravidanza sia attraverso un trattamento chirurgico correttivo che attraverso tecniche di riproduzione assistita⁶.

Gli uomini con azoospermia ostruttiva possono diventare padri: a) attraverso una correzione chirurgica dell'ostruzione che permette la ricomparsa di spermatozoi nel liquido seminale eiaculato e quindi una gravidanza senza dover ricorrere a tecniche di riproduzione assistita; b) attraverso gli spermatozoi recuperati a livello testicolare, epididimario o delle vie seminali con il successivo ricorso a tecniche di riproduzione assistita come la fecondazione *in vitro* (IVF) o l'iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi (ICSI).

Trattamenti chirurgici di ricanalizzazione delle vie seminali

Il trattamento chirurgico delle azoospermie ostruttive prevede diversi tipi di procedure:

- a) la ricanalizzazione dell'epididimo o del deferente, utilizzando una tecnica microchirurgica;
- b) l'utilizzo di tecniche endoscopiche di resezione transuretrale (TURED), in caso di ostruzione dei dotti eiaculatori;
- c) la disostruzione ecoguidata per via transrettale nelle ostruzioni distali a livello del carrefour prostatico-vescicolare (TRUCA);
- d) il tentativo di lavaggio per via anterograda delle vie seminali (STW), nelle subostruzioni dei dotti eiaculatori.

TECNICHE MICROCHIRURGICHE

La *ricostruzione microchirurgica* delle vie seminali è una tecnica che ha percentuali variabili di successo. La *vaso-vasostomia* dopo vasectomia ottiene la presenza di spermatozoi nell'eiaculato in percentuali variabili dal 70 al 95% dei pazienti e queste coppie riescono ad ottenere una gravidanza senza ricorrere a tecniche di riproduzione assistita in percentuali variabili dal 30 al 75% dei casi a seconda delle diverse casistiche⁷. Un fattore molto importante che influenza la probabilità di ricanalizzazione e di gravidanza è il numero di anni intercorsi tra la vasectomia e la successiva ricanalizzazione⁸. La durata dell'ostruzione e le possibilità di successo riproduttivo sono inversamente correlati. Altri fattori che influenzano la percentuale di successi sono la qualità del liquido seminale pre-vasectomia, la lunghezza del segmento rimasto tra l'epididimo e il punto della vasectomia e la presenza o l'assenza di un granuloma post-chirurgico che può determinare pro-

blemi intra- e/o post-operatori di riavvicinamento dei monconi deferenziali precedentemente sezionati.

Uno dei fattori determinanti la possibilità di gravidanza rimane l'età della partner femminile.

La *vaso-epididimostomia* eseguita per ostruzioni congenite, infettive o idiopatiche permette una gravidanza spontanea, senza ricorso a tecniche di riproduzione assistita, nel 20-40% delle coppie.

L'esperienza e l'abilità dell'operatore e la tecnica microchirurgica utilizzata influenzano i risultati di tutte le procedure microchirurgiche ricostruttive sulle vie seminali. I migliori risultati sono ottenuti da chirurghi con adeguato training e vasta esperienza con le tecniche microchirurgiche⁹. L'*American Urological Association* (AUA) raccomanda che i chirurghi coinvolti in queste procedure siano abili nel trattare strutture anatomiche con lumi di diametri estremamente piccoli ed esperti sia nella vaso-vasostomia che nella vaso-epididimostomia dato che quest'ultima può presentarsi inaspettatamente in molte situazioni perché solo una valutazione intraoperatoria diretta permette di verificare la vera situazione clinica ostruttiva da risolvere³. Raramente l'ostruzione può presentarsi nella porzione inguinale del deferente e a questo livello la causa è generalmente da danno iatrogeno legato ad una precedente ernioplastica inguino-scrotale. Alcune di queste situazioni possono essere corrette da una vaso-vasostomia eseguita a questo livello se il tratto ostruito permette una ricanalizzazione senza mai mettere in tensione il deferente ricostruito. Durante tutti gli interventi di microchirurgia ricostruttiva, si deve procedere ad un recupero chirurgico degli spermatozoi ed alla loro successiva crioconservazione in modo da evitare un ulteriore intervento se la ricostruzione microchirurgica dovesse fallire.

RESEZIONE TRANSURETRALE DEI DOTTI EIACULATORI (TRANS-URETHRAL RESECTION OF EJACULATORY DUCTS, TURED)

La possibilità che l'azoospermia sia dovuta ad una ostruzione dei dotti eiaculatori non va mai sottovalutata in una corretta diagnosi differenziale. Questa situazione non è frequente ma può essere trattata con una resezione transuretrale a livello del *veru montanum* dove i dotti si immettono nella porzione distale dell'uretra prostatica¹⁰. Questa tecnica nel 50-75% circa dei casi permette di ottenere la presenza di spermatozoi nell'eiaculato, mentre la *pregnancy rate* può raggiungere il 25% dei ricanalizzati¹¹. L'introduzione di nuove tecniche disostruttive o di prelievo diretto degli spermatozoi ha ridotto le indicazioni all'uso della TURED per le possibili, anche se rare ma gravi, complicanze che possono verificarsi come emorragie,

perforazioni, lesioni del collo vescicale e dello sfintere striato, reflusso di urine nelle vie seminali^{12 13}.

DISOSTRUZIONE DELLE VIE SEMINALI DISTALI PER VIA TRANSRETTALE ECOGUIDATA (TRANS-RECTAL ULTRASONICALLY-GUIDED CYST ASPIRATION, TRUCA)

Tecnica utilizzata in presenza di cisti intraprostatiche mulleriane non comunicanti con le vie seminali che esercitano però una compressione ostruttiva sui dotti (situazione clinica non frequente). In questi casi si procede ad una disostruzione delle vie seminali distali per via transrettale ecoguidata (TRUCA). Le cisti vengono aspirate ed eventualmente sclerotizzate. È una tecnica semplice, a basso costo che consente la ricanalizzazione nel 75% dei casi trattati^{14 15}.

LAVAGGIO ANTEROGRADO DELLE VIE SEMINALI (SEMINAL TRACT WASHOUT, STW)

Questa è una strategia usata soprattutto nelle subostruzioni dei dotti eiaculatori e consiste in un lavaggio anterogrado delle vie seminali a valle delle code degli epididimi, gli spermatozoi vengono sospinti in vescica e lì recuperati. Tecnica poco invasiva che permette, quando possibile, di recuperare un numero elevato di spermatozoi e, in alcuni casi selezionati, rimuovere coaguli di materiale seminale, ammassi di detriti cellulari di natura flogistica o calcoli incuneatisi nei dotti e consentire così un ripristino del normale svuotamento delle vie seminali¹⁶.

Recupero chirurgico o strumentale di spermatozoi finalizzato all'uso di una tecnica di riproduzione assistita

L'introduzione delle tecniche di fecondazione IVF e soprattutto dell'ICSI che necessita, per la sua attuazione, di un numero molto basso di spermatozoi ha modificato profondamente i nostri atteggiamenti sia diagnostici che terapeutici soprattutto in presenza di una azoospermia.

TECNICHE PIÙ FREQUENTEMENTE UTILIZZATE SOPRATTUTTO NELLE PROBLEMATICHE OSTRUTTIVE PER RECUPERARE SPERMATOZOI

L'aspirazione percutanea di spermatozoi direttamente dal testicolo (Testicular Sperm Aspiration, TE-SA)

È una tecnica semplice, poco invasiva, è richiesta solo un'anestesia locale ed è facilmente ripetibile. Si esegue utilizzando aghi Butterfly sottili (20, 21, 23 G) collegati direttamente ad una siringa da 20-50 ml. Gli

spermatozoi recuperati possono essere utilizzati subito, “a fresco”, per una ICSI oppure crioconservati¹⁷⁻¹⁹.

Il recupero di spermatozoi dal parenchima testicolare ottenuto da biopsie chirurgiche singole o multiple (*Testicular Sperm Extraction, TESE*)

È questa una tecnica leggermente più invasiva della prima ma permette il recupero di un numero maggiore di spermatozoi. Oggi anche una normale biopsia testicolare di tipo diagnostico dovrebbe sempre prevedere la possibilità di una crioconservazione degli eventuali spermatozoi trovati²⁰.

L'aspirazione percutanea di spermatozoi dall'epididimo (*Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration, PESA*)

È una tecnica utilizzata nei casi di azoospermia ostruttiva soprattutto in presenza di uno spermatocele congenito o acquisito dell'epididimo. Si effettua in anestesia locale ed è frequentemente associata alla TESA^{18 19}.

TECNICHE OGGI MENO UTILIZZATE

Il recupero microchirurgico di spermatozoi dall'epididimo (*Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration, MESA*)

È stata una delle prime tecniche usate nel recupero di spermatozoi da utilizzare nelle procedure di fecondazione assistita ma è oggi meno utilizzata perché richiede consolidate competenze microchirurgiche. Consente un recupero migliore in termini di qualità e quantità di spermatozoi richiede però tempi e costi più alti²¹. Esiste di questa tecnica anche una variante mini-invasiva che, utilizzando una apertura di circa 1 cm della borsa scrotale, permette di visualizzare l'epididimo senza esterificarlo e procedere poi, con le stesse modalità previste per una MESA tradizionale, al recupero di spermatozoi²².

L'asportazione chirurgica di porzioni della testa dell'epididimo (*Epididymal Sperm Extraction, ESE*)

La tecnica è simile a quella della TESE applicata all'epididimo. Si ha un buon recupero di spermatozoi ma è più invasiva, demolitiva e non facilmente ripetibile²³.

L'aspirazione microchirurgica di spermatozoi dal deferente (*Microsurgical Vasal Sperm Aspiration, MVSA*)

Può essere indicata in tutte le ostruzioni distali del deferente non ricostruibili, nelle ostruzioni dei dotti eiaculatori non altrimenti trattabili, nelle eiaculazio-

ni retrograde con insufficiente recupero di spermatozoi dalla vescica, nelle aneiaculazioni, soprattutto neurologiche quando falliscono la vibrostimolazione o l'elettroeiaculazione. Svantaggio di questa procedura è la necessità di avere nel proprio team un esperto microchirurgo. La TESA e la TESE, tecniche più semplici, e l'uso della ICSI hanno ridotto le sue indicazioni²⁴.

La Distal Seminal Tract Aspiration (DISTA)

È questa una tecnica che prevede l'aspirazione ecoguidata transperineale o transrettale con ago sottile, tipo Chiba 20-22G del liquido contenuto nelle vescicole seminali, nei dotti eiaculatori o in cisti del carrefour uro-seminale. Trova oggi una indicazione primaria nei casi di ostruzione dei dotti eiaculatori non trattabili con altre tecniche^{25 26}.

Infine sono ancora da ricordare, tra le tecniche di recupero di spermatozoi, finalizzati ad una tecnica di riproduzione medicalmente assistita: il già citato *Seminal Tract Washout* e la TRUSCA (*Trans-Rectal Ultrasonically-guided Sperm Cyst Aspiration*) tecnicamente simile alla TRUCA ma indicata nelle cisti intraprostatiche (mulleriane o del seno uro-genitale) comunicanti con i dotti eiaculatori; questa tecnica prevede la possibilità di aspirare direttamente spermatozoi da utilizzare per una eventuale ICSI. Può essere facilmente ripetuta con la possibilità di ottenere spermatozoi più “giovani”²⁷.

I risultati dell'utilizzo degli spermatozoi recuperati chirurgicamente nelle azoospermie ostruttive nella iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi

L'introduzione dell'ICSI ha rivoluzionato il nostro atteggiamento nei confronti della sterilità maschile e ha modificato la nostra pratica clinica²⁸. L'uomo “senza spermatozoi” ha oggi la speranza, tentando un prelievo chirurgico dei propri gameti, di poter avere un figlio biologicamente suo, prospettiva semplicemente impensabile sino a poco più di un decennio fa. L'ICSI è divenuta il trattamento elettivo anche nelle azoospermie in cui un eventuale trattamento ricostruttivo non è indicato; gravidanze sono state ottenute sia con spermatozoi recuperati chirurgicamente dall'epididimo²⁹ che dal testicolo³⁰. Sono stati utilizzati con successo spermatozoi recuperati direttamente dal testicolo sia in situazioni di azoospermia ostruttiva (OA) che non ostruttiva (NOA) anche se,

negli studi pubblicati, spesso la diagnosi è basata su parametri clinici molto variabili e in assenza di una precisa diagnosi istologica e strumentale.

La revisione della letteratura sui risultati della ICSI nelle azoospermie con recupero chirurgico di spermatozoi mostra percentuali di fertilizzazione complessive oscillanti tra il 45 e il 75% dei casi; percentuali di gravidanza clinica tra il 26 e il 57% e gravidanze a termine tra il 18 e il 54%^{31,32}. Un recente lavoro non evidenzia differenze nelle gravidanze ottenute tra l'utilizzo di spermatozoi recuperati dal testicolo in confronto a l'utilizzo di spermatozoi recuperati dall'epididimo³³.

Le percentuali di fertilizzazione, di *cleavage* e di gravidanza per *transfer* ottenute tramite ICSI con spermatozoi recuperati chirurgicamente nelle azoospermie ostruttive per alcuni Autori sono sovrapponibili a quelle ottenute, sempre tramite ICSI, con spermatozoi eiaculati nelle OAT; per altri presentano una diminuzione delle percentuali di fertilizzazione e di impianto, ma non di gravidanza³¹.

Uno degli studi recentemente pubblicati su una vasta casistica³⁴ ha valutato 911 cicli di ICSI con spermatozoi ottenuti chirurgicamente ed utilizzati a fresco; 605 cicli sono stati effettuati utilizzando spermatozoi recuperati da uomini con azoospermia ostruttiva e 306 con spermatozoi recuperati in situazioni di azoospermia non ostruttiva. La valutazione statistica delle percentuali di fertilizzazione, di *cleavage*, di impianto e di gravidanza ha messo in evidenza come nelle situazioni di azoospermia non ostruttiva la percentuale di fertilizzazione a due pronuclei (2PN) e la percentuale di gravidanze è significativamente inferiore rispetto alle azoospermie ostruttive. Vi sono evidenze cliniche del fatto che gli embrioni, ottenuti dopo un prelievo chirurgico in una azoospermia non ostruttiva, risultano essere anomali nel 78% dei casi³⁵.

Anche l'abortività è maggiore nelle gravidanze ottenute con spermatozoi recuperati da azoospermie non ostruttive ed è stato ipotizzato che vi possa essere un aumento di embrioni con aneuploidie derivante da anomalie genetiche degli spermatozoi^{36,37}. È ben accertato che nei soggetti infertili vi sia un aumento di alterazioni genetiche anche in presenza di un cariotipo normale³⁸ e va inoltre ricordato che anomalie cromosomiche si evidenziano nel 10-15% dei soggetti con una azoospermia³⁹.

Ampio dibattito c'è stato in questi anni sulla efficacia dell'utilizzo di spermatozoi congelati rispetto all'utilizzo di spermatozoi freschi nelle tecniche di riproduzione assistita. Nel primo caso la procedura chirurgica di prelievo degli spermatozoi viene programmata prima dell'inizio della stimolazione ovarica della partner femminile in modo da evitare: a) alla donna una inutile stimolazione nel caso che non vengano recuperati spermatozoi e b) all'uomo una ripetizione della procedura se il ciclo non ha avuto successo. D'altra parte esiste il rischio che, in presenza di un numero esiguo di spermatozoi recuperati, una volta diluiti nel *medium* crioprotettivo e stoccati nelle tradizionali *paillettes* o *vials*, non vengano ritrovati allo scongelamento. A questo proposito sono state proposte altre modalità di congelamento quando si crioconserva un ridotto numero di spermatozoi⁴⁰. Benché opinioni contrastanti siano emerse in passato sulle differenze tra percentuale di fertilizzazione e percentuale di gravidanze cliniche tra l'utilizzo di spermatozoi recuperati chirurgicamente "a fresco" o crioconservati oggi è opinione largamente condivisa che tra le due procedure non vi siano differenze sostanziali nei risultati⁴¹ e che i vantaggi di una crioconservazione preventiva superino ampiamente gli svantaggi⁴².

Bibliografia

- 1 Weider W, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Pomelol JM. *EAU Guidelines on male infertility*. Eur Urol 2002;42:313-22.
- 2 Anguiano A, Oates RD, Amos JA, Dean M, Gerrard B, Steward C, et al. *Congenital bilateral absence of the vas deferens. A primarily genital form of cystic fibrosis*. JAMA 1992;267:1794-7.
- 3 AUA. *Best Practise Police and ASRM practice*. Committee Report 2001;1:5.
- 4 Wagenknecht LV. *Obstruction in male reproductive tract*. In: Bain J, Schill WB, Schwarzstein L, eds. *Treatment of male infertility*. Berlin: Spring-Verlag 1982, pp. 221-248.

- 5 Jarow JP, Espeland MA, Lipshulz LI. *Evaluation of the azoospermic patient*. J Urol 1989;142:162.
- 6 Silber SJ, Nagy Z, Devroey P, Camus M, Van Steirteghem AC. *The effect of female age and ovarian reserve on pregnancy rate in male infertility: treatment of azoospermia with sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod 1997;12:2693-700.
- 7 Silber SJ. *Microscopic vasoepididymostomy: specific microanastomosis to the epididimal tubule*. Fertil Steril 1978;30:565.
- 8 Belker AM, Thomas AJ Jr, Fucchs EF, Konnak JW, Sharlip ID. *Results of 1469 microsurgical vasectomy reversals by the vasovasostomy study group*. J Urol 1991;145:505-11.
- 9 Borovikov A. *Treatment of large vassal defects*. In: Goldstein

- M, ed. *Surgery of male infertility*. Philadelphia: WB Saunders Co. 1995, pp. 77-95.
- 10 Farley S, Barnes R. *Stenosis of the ejaculatory ducts treated by endoscopic resection*. J Urol 1973;109:664-6.
 - 11 Colpi GM. *La terapia chirurgica. Il Corso di aggiornamento "Il trattamento" dell'infertilità maschile*. Milano, 19 maggio 2000.
 - 12 Goluboff ET, Kaplan SA, Fish H. *Seminal vesicle urinary reflux as a complication of transurethral resection of ejaculatory ducts*. J Urol 1995;153:1234-5.
 - 13 Colpi GM, Beretta G, Bettocchi C, Franco G, Piediferro G. *Azoospermia. Linee guida*. Giornale Italiano di Andrologia 2002;9(Suppl 3):38-40.
 - 14 Sharlip ID. *Obstructive azoospermia or oligozoospermia due to Mullerian duct cyst*. Fertil Steril 1984;41:298-303.
 - 15 Colpi GM, Negri L, Scropo FI, Grugnetti C. *Ultrasonically guided treatment of anomalies of uroseminal carrefour*. In: Colpi GM, Balerna M, eds. *Treating male infertility: new possibilities*. Basel: Karger 1994, pp. 187-198.
 - 16 Colpi GM, Negri L, Patrizio P, Pardi G. *Fertility restoration by seminal tract washout in ejaculatory duct obstruction*. J Urol 1995;153:1948.
 - 17 Belker AM, Sherins RJ, Dennison-Lagoa L, Thorsell LP, Schulman JD. *Percutaneous testicular sperm aspiration: a convenient and effective office procedure to retrieve sperm for in vitro fertilization with ICSI*. J Urol 1998;160:2058-62.
 - 18 Levine LA, Lisek EW. *Successful sperm by percutaneous epididymal and testicular sperm aspiration*. J Urol 1998 159;437-40.
 - 19 Beretta G, Rubino P, Scarselli F, Cuomo S. *Percutaneous epididymal and testicular sperm aspiration in obstructive azoospermia*. Giornale Italiano di Andrologia 2002;9:268-71.
 - 20 Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P. *High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy*. Hum Reprod 1995;10:148-52.
 - 21 Silber SJ, Balmaceda J, Borrero C, Ord T, Asch R. *Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens*. Fert Steril 1988;50:525-8.
 - 22 Franco G, Rocchegiani A, Di Marco M, Martini M, Di Crosta G, Laurenti C. *A new minimally invasive approach of MESA: Minimally invasive therapy and allied technology* 1995;5(Suppl 1):66.
 - 23 Kim SJ, Han HD. *In vitro retrieval of epididymal sperm: a new approach to achievement of pregnancy for post-testicular azoospermia*. Fertile Steril 1995;63:656-9.
 - 24 Pomerol Monseny JM. *Tratamientos quirurgicos de la infertilidad masculina: recuperacion espermatica deferencial*. In: *Actualizacion in Andrologia*. Barcellona 1998.
 - 25 Jarw JP. *Seminal vesicle aspiration in the management of patients with ejaculatory duct obstruction*. J Urol 1994;152:899-901.
 - 26 Franco G, Gandini L, Ciccariello M, Martini M, Fabbri A, Laurenti C. *Transperineal distal seminal tract sperm aspiration: an alternative treatment to transurethral resection of the ejaculatory ducts?* J Urol 1995;153:261A.
 - 27 Colpi GM, Negri L, Pariani S, Gianaroli L, Ferraretti AP, Balerna M. *Seminal tract washout as a method to recover sperm for assisted reproductive technology; a treatment for infertility due to anejaculation*. In: Abstract of the 14th Annual Meeting of the ESHRE Goteborg 1998. Hum Reprod 1998;13:121.
 - 28 Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. *Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of single spermatozoon into an oocyte*. Lancet 1992;340:17-8.
 - 29 Tournaye H, Devroey P, Liu J, Nagy Z, Lissens W, Van Steirteghem A. *Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral absence of the vas deferens*. Fertil Steril 1994;61:1445-50.
 - 30 Craft I, Bennett V, Nicholson N. *Fertilising ability of testicular spermatozoa*. Lancet 1993;342:864.
 - 31 Palermo GD, Schlegel PN, Hariprasad JJ, Ergun B, Mielnik A, Zaninovic N. *Fertilization and pregnancy outcome with intracytoplasmic sperm injection for azoospermic men*. Hum Reprod 1999;14:741-8.
 - 32 Friedel S, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Soffer Y, Ron-El R. *Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia: a comparative study*. Hum Reprod 2002;17:3114-21.
 - 33 Nicopoulos JDM, Smith CG, Almeida PA, Taylor JN, Grace I, Ramsay JWA. *Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis*. Fertil Steril 2004;8:691-701.
 - 34 Vernaeve V, Tournaye H, Osmanagaoglu K, Verheyen G, Van Steirteghem A, Devroey P. *Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is less successful in men with non-obstructive azoospermia than in men with obstructive azoospermia*. Fertil Steril 2003;79:529-33.
 - 35 Silber S, Escudero T, Lenahan K, Abdelhadi I, Kilani Z, Munné S. *Chromosomal abnormalities in embryos derived from testicular sperm extraction*. Fertil Steril 2003;79:30-8.
 - 36 Borges E Jr, Rossi-Ferragut LM, Pasqualotto FF, dos Santos DR, Rocha CC, Iaconelli A Jr. *Testicular sperm results in elevated miscarriage rates compared to epididymal sperm in azoospermic patients*. Sao Paulo Med J 2002;120:122-6.
 - 37 Anderson AR, Wiemer KE, Weikert ML, Kyslinger ML. *Fertilization, embryonic development and pregnancy losses with intracytoplasmic sperm injection for surgically-retrieved spermatozoa*. Reprod Biomed Online 2002;5:142-7.
 - 38 Kearns WG, Pang MG, Griffin D, Brihn L, Stacey M, Doncel GF, et al. *Molecular cytogenetic analysis of sperm from infertile males undergoing intracytoplasmic sperm injection*. Methods Mol Biol 2000;123:307-21.
 - 39 De Braekeleer M, Dao TN. *Cytogenetic studies in male infertility: a review*. Hum Reprod 1991;6:245-50.
 - 40 Garrisi GJ, Congedo-Ferrara TA, Kieck KA, Schimmel TW, Scott RT. *Cryopreservation of single human spermatozoa*. Hum Reprod 1997;5:306-9.
 - 41 Devroey P, Van Steirteghem A. *A review of ten years experience of ICSI*. Hum Reprod Update 2004;10:19-28.
 - 42 Rubino P, Scarselli F, Beretta G. *Surgical sperm retrieval in men with high FSH level*. Hum Reprod 2002;17:125-7.

Domanda 1: Qual è la percentuale delle azoospermie ostruttive?

- a. Il 10% di tutte le situazioni di azoospermia
- b. Il 70% di tutte le situazioni di azoospermia
- c. Il 40% di tutte le situazioni di azoospermia

Domanda 2: Il dosaggio ematochimico dell'FSH nelle azoospermie ostruttive di solito è:

- a. Normale
- b. Aumentato
- c. Diminuito

Domanda 3: Qual è la percentuale di soggetti con eterozigoti per fibrosi cistica che presentano una agenesia deferenziale?

- a. 70-80% dei casi
- b. 20-30% dei casi
- c. 30-40% dei casi

Domanda 4: La presenza di spermatozoi nell'eiaculato dopo vaso-vasostomia attuata con tecniche microchirurgiche successiva ad una vasectomia si verifica in percentuali variabili:

- a. Dal 10-20% dei casi
- b. Dal 40-50% dei casi
- c. Dal 70-95% dei casi

Domanda 5: La vaso-epididimostomia eseguita per ostruzioni congenite, infettive o idiopatiche permette una gravidanza spontanea senza ricorso a tecniche di riproduzione assistita:

- a. Nel 80-100% delle coppie
- b. Nel 20- 40% delle coppie
- c. Nel 5- 10% delle coppie

Domanda 6: La possibilità di crioconservare spermatozoi, in un paziente azoospermico, deve sempre essere tenuta presente quando si esegue una biopsia testicolare:

- a. No, se è si vuole fare solo una diagnosi
- b. Sì, sempre
- c. Dipende dal quadro clinico

Domanda 7: La *Percutaneous Epididimal Sperm Aspiration* (PESA) viene utilizzata:

- a. In tutti casi di azoospermia ostruttiva
- b. Nelle azoospermie ostruttive congenite
- c. Soprattutto in presenza di uno spermatocele epididimario

Domanda 8: L'ICSI ha permesso di ottenere gravidanze:

- a. Solo con spermatozoi recuperati chirurgicamente dall'epididimo
- b. Solo con spermatozoi recuperati direttamente dal testicolo
- c. Sia con spermatozoi epididimari che testicolari

Domanda 9: Le percentuali di gravidanze cliniche ottenute con le tecniche di fertilizzazione assistita sono:

- a. Più alte con l'utilizzo di spermatozoi recuperati e crioconservati
- b. Più alte con l'utilizzo degli spermatozoi "a fresco"
- c. Non vi sono differenze sostanziali

Domanda 10: Uno dei fattori determinanti per il successo di un ciclo di ICSI è:

- a. L'età della partner
- b. La concentrazione di spermatozoi recuperata
- c. L'etiologia dell'azoospermia

Classificazione ed epidemiologia delle disfunzioni sessuali della donna

Classification and epidemiology of women's sexual dysfunction

A. SALONIA, A. GALLINA, G.V. FANTINI, F. FABBRI, F. MONTORSI

U.O. di Urologia, Istituto Scientifico Universitario, Ospedale "San Raffaele", Milano, Italia

Parole chiave: Donna, Disfunzioni sessuali femminili, Epidemiologia

Key words: *Female, Women sexual dysfunction, Epidemiology*

Riassunto

Le disfunzioni sessuali della donna sono rappresentate da disordini del desiderio sessuale, dell'arousal (cioè dell'eccitamento soggettivo o, più semplicemente definibile come percepito soggettivamente, ed oggettivo – sia genitale, cioè dei genitali esterni ed interni della donna, che extra-genitale, coinvolgente capezzoli, mammelle, cute ecc.) e della fase orgasmica. A questi si aggiungono disordini definiti da dolore sessuale, ovvero vulvodinia, dispareunia con o senza vulvodinia, e vaginismo. Tutti questi disordini si configurano come tali qualora esitino in un significativo "distress" nella donna potendo, al contempo, avere un effetto negativo sulla sua salute complessiva come pure potendone inficiare o compromettere la qualità di vita. Benché ciascuna delle diverse condizioni possa essere "didatticamente" definita separatamente, nelle pazienti interessate i disturbi sono molto spesso embricati. I dati derivabili dal censimento della popolazione americana suggeriscono come circa 10 milioni di donne di età compresa tra i 50 ed i 74 anni soffrano di disordini caratterizzati da una diminuita lubrificazione vaginale, dalla comparsa di "discomfort" o vero e proprio dolore durante i rapporti, da un diminuito eccitamento genitale e da un difficoltoso raggiungimento dell'orgasmo. I risultati dell'"*Health and Social Life Survey*" (NHSL) sottolineavano addirittura come la prevalenza di disfunzioni sessuali potesse essere superiore nelle donne (43%) rispetto agli uomini (31%) e come fosse associata a numerosi aspetti del background psicologico e demografico, quali l'età, l'educazione oltre che lo stato di benessere fisico. Sono stati recentemente pubblicati i risultati del "*Global Study of Sexual Attitudes and Behaviours*" (GSSAB), uno studio internazionale relativo ad una popolazione maschile e femminile di età compresa tra i 40 e gli 80 anni sistematicamente finalizzato ad indagini relative alla attività sessuale, alla descrizione della prevalenza delle disfunzioni sessuali ed alla corrispondente richiesta di aiuto da parte dei soggetti presi in esame. Questo studio dimostrava una prevalenza compresa tra il 26 ed il 43% di ridotto interesse verso la sessualità ed una difficoltà di raggiungimento dell'orgasmo in ben il 18-41% della coorte analizzata. Molto interessanti anche i dati di prevalenza relativi alla sintomatologia algica durante la attività sessuale, alla scarsa soddisfazione sessuale ed alla difficoltà di lubrificazione lamentate dalle donne intervistate.

Summary

Sexual dysfunction in women is defined as disorders of sexual desire, arousal, orgasm and/or sexual pain, which result in significant personal distress and may have a negative effect on a woman's health and an impact on the quality of life. Although each specific condition can be separately defined in medical terms, there is significant clinical overlap in affected patients. Well-designed, random-sample, community-based epidemiological investigations of women with sexual dysfunction are limited. United States population census data suggest that approximately 10 million American women aged 50-74 self-report complaints of diminished vaginal lubrication, pain and discomfort during intercourse, decreased arousal, and difficulty achieving orgasm. Data from the Health and Social Life Survey (NHSL) found that sexual dysfunction is more prevalent in women (43%) than in men (31%) and is associated with various psycho-demographic characteristics such as age, education, and poor physical and emotional health. Very recently, results from the Global Study of Sexual Attitudes and Behaviours (GSSAB), an internally-based study survey aimed at assessing sexual activity, showed the prevalence of sexual dysfunction and related help-seeking behaviour among middle-aged and elderly people around the world. This study reported a prevalence ranging between 26 and 43% for low sexual interest and between 18 and 41% for the inability in reaching orgasm. Interestingly, pain during sex, sex not pleasurable and lubrication difficulties also represent frequently reported symptoms.

Introduzione

Le disfunzioni sessuali femminili (DSF) comprendono una serie di disturbi ampiamente diffusi nella popolazione, ad eziologia prevalentemente multifattoriale ma con una forte componente psicologica, emozionale e relazionale¹. Benché spesso misconosciute dalla ricerca e mis-diagnosticate dalla clinica, le DSF rappresentano quindi una problematica di emergente interesse sia dal punto di vista epidemiologico-statistico che da quello diagnostico e terapeutico.

Sebbene sia particolarmente difficile affrontare scientificamente il discorso “salute sessuale della donna” sia per significativi problemi culturali che per un importante ritardo nella ricerca della “biologia” della stessa funzione sessuale femminile, nel corso degli ultimi anni la discussione relativa alla “Medicina Sessuale della donna” è stata vivace, alla sua reale esistenza, alla sua “necessità” ovvero alla sua “opportunità”. Sono state infatti molte le istanze volte a svelire il concetto della reale esistenza di disordini della sessualità femminile, spesso accusati di creare, da parte di terzi – ndr le grandi case farmaceutiche – un mercato della Medicina Sessuale anche al femminile².

In realtà, per fortuna, il dibattito è stato ancor più vivace in termini di difficoltà classificative, di aspetti fisiologici, eziopatogenetici e fisiopatologici dei disordini sessuali della donna.

Classificazione delle disfunzioni sessuali della donna

Le DSF vengono definite come “un problema medico multi-eziologico e multi-dimensionale, combinante elementi eziopatogenetici biologici, psicologici ed interpersonali, che agiscono avversativamente sulla salute fisica ed il benessere emotivo della donna”³.

In termini clinici una precisa classificazione tassonomica delle DSF risulta particolarmente difficoltosa poiché i disordini della sessualità della donna sono fortemente dipendenti da elementi cognitivo-comportamentali e da aspetti e/o retaggi socio-culturali; questa difficoltà è inoltre favorita dal fatto che le differenti problematiche risultano pressoché sempre embricate tra loro e difficilmente disgiungibili.

La classificazione tassonomica inizialmente suggerita dal *Mental Disorders Diagnostic and Statistical Manual (DSM-IV)* della associazione degli psichiatri americani e, successivamente, rielaborata sulla base degli orientamenti della “*International Society*

for the Study of Women Sexual Health”^{3 4} – organismo multidisciplinare, internazionale, dedicato alla ricerca epidemiologica e diagnostico-terapeutica relativa al benessere sessuale della donna – riflette il modello trifasico della risposta sessuale descritto da Helen Kaplan, suddividendo le DSF in 4 categorie principali: disordini del desiderio, della eccitazione (*arousal*), della fase orgasmica e “dolore sessuale” (Tab. I).

La prima classificazione proposta³ prevedeva una importante caratterizzazione di ciascuna problematica, suddividendo ulteriormente i diversi disordini in primari (congeniti) o secondari (acquisiti). Le DSF venivano quindi contestualizzate e, pertanto, classificate in generalizzate ovvero situazionali (cioè tali da verificarsi solamente in determinate condizioni – ad esempio con un partner specifico). Da ultimo, in termini eziopatogenetici una DSF poteva essere descritta come psicologica, organica, mista oppure idiopatica.

La classificazione dei comportamenti sessuali – come normali o patologici – comunque, risente invariabilmente sia dell’atteggiamento e/o del contesto sociale in materia di “condotta sessuale”, sia della continua evoluzione delle conoscenze scientifiche in tema di eziopatogenesi e fisiopatologia. Questo ha fatto sì che venisse promossa una successiva rielaborazione critica della prima classificazione tassonomica. Sulla base di un differente “sentire” relativo al cosiddetto “ciclo sessuale” femminile⁵, Rosemary Basson et al. hanno pertanto recentemente proposto un ampliamento nelle definizioni dei singoli campi della “datata” classificazione del 1998³, in seguito soprattutto alle evidenze derivanti dagli studi clinico-epidemiologici e fisiopatologici pubblicati nel corso degli ultimi anni (Tab. I)⁶⁻¹².

Questa nuova modalità di inquadramento classificativo tende a sottolineare la grande importanza dei disordini da desiderio sessuale ipoattivo della donna – che, ad oggi, rappresentano per prevalenza la prima delle problematiche in termini di medicina sessuale femminile – oltre a meglio definire i poliedrici aspetti dalla grande famiglia di disordini prima passati sotto la comune definizione di “disordini della fase di eccitamento sessuale”. Infatti la Basson et al. hanno qualificato gli aspetti patologici della componente soggettiva dell’arousal femminile rispetto alle caratteristiche squisitamente periferiche tipiche dell’eccitamento genitale patologico e delle forme miste – cioè implicanti una componente psicologico-soggettiva ed una biologico-periferica⁶. Molto interessante l’inserimento di una nuova tipologia di disordini rappresentata dalla presenza di una persistente e

Tab. I. Classificazione della disfunzioni sessuali della donna. *Classification of female sexual dysfunctions.*

Basson et al., 2000 ³	Basson, et al., 2003 ⁶
<p>Disordini del desiderio <i>Desiderio sessuale ipoattivo:</i> persistente o ricorrente deficit sessuale o assenza di fantasie sessuali e/o di pensieri e/o di recettività durante l'attività sessuale che condiziona un disagio personale</p>	<p>Disordine dell'interesse/desiderio sessuale della donna Assenza o diminuzione dei sentimenti di interesse sessuale o di desiderio, assenza di pensieri o fantasie sessuali e mancanza di desiderio in risposta ad una stimolazione. Le motivazioni (qui definite come ragioni/stimoli) per tentare di raggiungere un eccitamento sessuale sono scarse o assenti. La mancanza di interesse viene considerata nel caso in cui non possa essere inserita in un contesto di abitudine di vita o di prolungata relazione</p>
<p><i>Avversione sessuale:</i> avversione fobica, persistente o ricorrente, che porta ad evitare contatti sessuali con il partner, che causi un disagio personale</p>	<p>Disordini dell'eccitazione sessuale della donna</p>
<p>Disordini dell'arousal (eccitamento) sessuale femminile Persistente o ricorrente incapacità nell'ottenere e/o nel mantenere un'eccitazione sessuale sufficiente, tale da condizionare stress o disagio. Può essere espresso come una perdita soggettiva dell'eccitazione o una riduzione della lubrificazione, della congestione genitale o una diversa risposta somatica</p>	<p>a) <i>Disordine da disturbo soggettivo dell'arousal:</i> assenza o marcata diminuzione della sensazione di <i>arousal</i> (sensazione di eccitazione e di piacere sessuale) in seguito a qualsiasi tipo di stimolazione sessuale. Sono mantenuti lubrificazione vaginale e gli altri segni di risposta fisica</p> <p>b) <i>Disordine da disturbo genitale dell'arousal:</i> riscontro di assenza o insufficiente eccitazione a livello genitale. La paziente può riferire scarso rigonfiamento vulvare o insufficiente lubrificazione vaginale, indipendentemente dal tipo di stimolazione e riduzione della sensibilità tattile a livello genitale. L'eccitazione sessuale soggettiva è mantenuta in risposta a stimolazioni sessuali non genitali</p> <p>c) <i>Disordine da disturbo combinato soggettivo/genitale dell'arousal:</i> assenza o marcata diminuzione della sensazione di <i>arousal</i> (eccitazione sessuale e piacere sessuale) indipendentemente da qualsiasi tipo di stimolazione sessuale e l'assenza o l'insufficienza di eccitazione sessuale a livello genitale (rigonfiamento vulvare, lubrificazione)</p> <p>d) <i>Disordine da persistente arousal sessuale:</i> spontaneo, indesiderato e disturbante eccitazione sessuale (es. turgore dei capezzoli, pulsazione, rigonfiamento) in assenza di interesse sessuale e di desiderio. Qualsiasi sensazione di eccitazione sessuale è tipicamente, ma non invariabilmente, spiacevole. L'eccitazione non è ridotta da uno o più orgasmi e la sensazione può permanere per ore o giorni</p>
<p>Disordini della fase orgasmica Ritardo, difficoltà o assenza, persistente o ricorrente, nell'ottenere l'orgasmo, successiva ad una fase di normale eccitazione, che causi un disagio personale</p>	<p>Disordine della fase orgasmica della donna Ritardo, marcata diminuzione di intensità o assenza di orgasmo nonostante un alto livello soggettivo di eccitazione sessuale, indipendentemente da qualsiasi stimolazione</p>
<p>Dolore sessuale a) <i>Dispareunia:</i> dolore a livello dei genitali femminili, associato al rapporto sessuale, persistente o ricorrente, che causi un disagio personale</p> <p>b) <i>Vaginismo:</i> spasmo involontario, persistente o ricorrente, dei muscoli circondanti l'introito vaginale (1/3 esterno della vagina), che interferisca con la penetrazione vaginale condizionando dolore e responsabile di un disagio personale</p>	<p>Dolore sessuale a) <i>Dispareunia:</i> dolore a livello dei genitali, persistente o ricorrente, durante un tentativo di rapporto o un rapporto sessuale completo</p> <p>b) <i>Vaginismo:</i> persistente o ricorrente difficoltà nel permettere l'inserimento del pene, di un dito o di qualsiasi oggetto nonostante la manifesta volontà. C'è spesso una (fobica) fuga, una paura anticipatoria e un dolore, spesso accompagnato da involontarie contrazioni dei muscoli pelvici, di intensità variabile. Deve essere esclusa qualsiasi malformazione e/o anomalia anatomica</p>
<p>c) <i>Dolore non associato ai rapporti sessuali coitali:</i> dolore a livello dei genitali, persistente o ricorrente, indotto da stimolazione sessuale al di fuori dei rapporti sessuali, condizionante disagio personale</p>	<p>c) <i>Dolore non associato ai rapporti sessuali coitali:</i> dolore a livello dei genitali, persistente o ricorrente, indotto da stimolazione sessuale al di fuori dei rapporti sessuali, che causa disagio personale</p>
	<p>Disordine da avversione sessuale della donna</p>

disturbante eccitazione sessuale, precedentemente descritta solamente in forma di “case report” ma non adeguatamente fornita di propria dignità. Dispareunia, vaginismo e dolore sessuale non coitale vengono invece mantenuti come autonomi quadri di “sindrome algica” contestualizzata alla attività sessuale.

Cenni di epidemiologia delle disfunzioni sessuali della donna

Nella analisi della letteratura di Simons e Carey¹³ relativa alla prevalenza delle DSF è racchiusa la grande difficoltà incontrata dallo studio della biologia dei disordini della sessualità della donna: la iniziale mancanza di criteri standardizzati di definizione per le DSF ha influito negativamente sulle possibili comparazioni tra i diversi studi epidemiologici su larga scala.

Negli ultimi anni, tuttavia, l'attenzione della comunità scientifica si è rivolta anche a questo campo precedentemente trascurato, ma i dati su incidenza, prevalenza e fisiopatologia delle DSF sono ancora limitati. La review su 52 studi prodotta da Simons and Carey, per esempio, ha evidenziato come solamente pochi lavori si basassero su campioni di popolazione ampiamente rappresentativi, oltre al fatto che un numero ancora inferiore includeva informazioni sui frequentissimi problemi sessuali molteplici ed embricati¹³.

Le informazioni più dettagliate sulla prevalenza ed incidenza delle DSF provengono da studi realizzati in nazioni dell'Europa occidentale e negli Stati Uniti d'America.

Già dalle prime indagini epidemiologiche effettuate su coppie americane le DSF risultavano ampiamente diffuse nella popolazione generale, con una prevalenza variabile tra il 25% e, addirittura, il 63%^{14 15}. Un censimento della popolazione americana evidenziava, ad esempio, come ben 9,7 milioni di donne statunitensi, di età compresa tra i 50 ed i 74 anni, lamentassero problemi di lubrificazione vaginale, dolore e “discomfort” durante il rapporto, diminuzione dell'eccitazione e difficoltà di raggiungimento dell'orgasmo¹⁶. Fondamentale pertanto considerare, in questa ottica, i dati del monumentale lavoro pubblicato sulle pagine di JAMA¹⁷ da Laumann et al. Partendo dalle valutazioni eseguite dal NHLS, in uno studio epidemiologico relativo ad un campione randomizzato di ben 1.622 donne estrapolate dalla popolazione americana, Laumann riferiva di una prevalenza complessiva di DSF pari al 43%. Basandosi sulla classificazione del DSM-IV, furono investigati in modo selettivo 7 domini:

- 1) mancanza di desiderio sessuale;
- 2) difficoltà di eccitazione (problemi di lubrificazione);
- 3) incapacità di raggiungere l'orgasmo;
- 4) ansietà riguardo le prestazioni sessuali;
- 5) orgasmo eccessivamente precoce;
- 6) dolore fisico durante il rapporto sessuale;
- 7) mancanza di piacere durante il rapporto.

I dati ottenuti da Laumann mostravano come la popolazione femminile potesse essere grossolanamente divisa in 4 categorie: un gruppo di donne sane (prevalenza 58%), un gruppo con problemi di ridotto desiderio sessuale (ben il 22%!), un gruppo con disturbi della fase eccitatoria (14%) ed, infine, un gruppo che lamentava una sintomatologia algica durante i rapporti sessuali (7%).

Gli stessi Autori sottolineavano la valenza di tale dato epidemiologico, considerando come nel gruppo di soggetti di sesso maschile afferenti alla medesima popolazione in studio (circa 1.700 individui) la prevalenza di disfunzioni sessuali, cumulativamente considerate (cioè deficit di desiderio, eiaculazione precoce e ritardata, aneiaculazione, disfunzione erettile) risultasse “solamente” del 31%. Tale studio riguardava però solo soggetti di età compresa tra i 18 ed i 59 anni; non erano quindi incluse donne di età superiore ai 60 anni e non venivano eseguite correzioni e stratificazioni in funzione di stato menopausale e fattori “medici/biologici” di rischio potenzialmente associati.

Nel dettaglio lo studio americano dimostrava come nelle pazienti non coniugate (ovvero nubili o divorziate), venisse riscontrata una maggiore prevalenza di disordini della salute sessuale – soprattutto in termini di disturbi della fase orgasmica rispetto alle donne sposate. La scolarizzazione assumeva caratteri rilevanti nei dati di Laumann poiché le donne con un più elevato grado di istruzione lamentavano una maggior prevalenza di calo del desiderio sessuale, con una più marcata difficoltà nel raggiungere l'orgasmo, una maggior prevalenza di dolore sessuale oltre che di ansietà durante il rapporto sessuale; al contrario, le donne con un minor grado di istruzione riferivano esperienze sessuali mediamente meno piacevoli. Con una connotazione squisitamente nord-americana, lo stesso studio dimostrava anche importanti differenze interrazziali; le donne afro-americane, ad esempio, avevano una maggiore prevalenza di desiderio sessuale ipoattivo associato a scarso piacere durante i rapporti. Al contrario, le donne di razza caucasica risultavano più soggette a sintomatologia algica durante i rapporti. Curiosamente risultava

complessivamente inferiore la prevalenza di DSF nella coorte di donne ispaniche arruolate.

Recentemente è stato pubblicato il primo studio epidemiologico internazionale su larga scala, definito *Global Study of Sexual Attitudes and Behaviours* (GSSAB)¹⁷. Il GSSAB è il primo ampio trial epidemiologico internazionale volto alla indagine sistematica degli atteggiamenti, delle convinzioni e dei comportamenti correlati alle relazioni sessuali tra adulti. Questa indagine epidemiologica ha coinvolto ben 13.882 donne e 13.618 uomini, di età compresa tra 40 e 80 anni, distribuiti in 29 stati, in rappresentanza di diverse regioni del mondo e suddivise per aree geografiche: Europa settentrionale (Austria, Belgio, Germania, Svezia, Gran Bretagna) e meridionale (Francia, Israele, Italia e Spagna), occidente non europeo (Australia, Canada, Nuova Zelanda, Sud Africa e USA), America centro-meridionale (Brasile e Messico), medio oriente (Algeria, Egitto, Marocco e Turchia), estremo oriente (Cina, Hong Kong, Giappone, Korea e Taiwan) e sud-est asiatico (Indonesia, Malesia, Filippine, Singapore e Thailandia).

Premessa fondamentale alla rigerosità dello studio il fatto che potessero essere inclusi solamente individui con una vita sessuale attiva nell'anno precedente alla intervista e con eventuale presenza di disturbi sessuali con una durata complessiva di almeno 2 mesi nell'arco di tempo considerato. Nel caso della salute sessuale delle donne sono stati indagati il dominio del desiderio sessuale (ovvero l'interesse dimostrato nei confronti della sessualità stessa), quello della fase orgasmica (con le eventuali difficoltà di raggiungimento del medesimo), quello importante della sintomatologia algica in corso di attività sessuale come pure quello della soddisfazione legata alla sessualità. Da un punto di vista squisitamente biologico, una indagine relativa alla qualità della lubrificazione vagi-

nale rappresentava elemento dirimente lo stato di attivazione periferica della fase di eccitamento. Tutte le informazioni ottenute sono state però contestualizzate ed adeguatamente stratificate attraverso una consensuale valutazione delle condizioni generali della donna, della presenza di comorbidità mediche e di deflessione del tono dell'umore, o vera e propria depressione. Venivano inoltre eseguite correlazioni rispetto alle abitudini comportamentali (es. attività fisica) e ricreative (es. fumo di sigaretta). Ulteriore settore di indagine risultava l'influenza/impatto del background socio-culturale e della religione sulla vita sessuale della donna e sulla qualità del rapporto di coppia (recenti divorzi o separazioni), la frequenza dei rapporti e la monogamia.

Da questa capillare indagine globale sono emersi dati di straordinaria importanza per l'epidemiologia mondiale delle DSF. La *manca di interesse nei confronti della sessualità*, con deficit del desiderio sessuale, dimostrava una *prevalenza dal 26 al 43%* nella popolazione femminile. Immediatamente successiva l'*incapacità di raggiungere l'orgasmo*, con una *prevalenza compresa tra il 18 ed il 41%*, in funzione delle aree geografiche. La Figura 1 descrive la prevalenza delle disfunzioni sessuali nelle donne del gruppo Europa del Sud del GSSAB.

Una insufficiente lubrificazione vaginale è risultata inoltre un problema comune ed ubiquitariamente diffusa con frequenza simile (range: 18,4-27%), con l'eccezione dell'estremo oriente e del sud-est asiatico in cui la prevalenza dei DSF in generale è risultata nettamente più alta (range: 34,2-37,9%).

Una sub-analisi della coorte di questo ultimo campione di popolazione¹⁸ dimostrava come nelle donne del sud-est asiatico, ad esempio, il deficit di desiderio rappresentasse il disordine più presente, interessando mediamente il 27% della coorte in studio, ma come ben

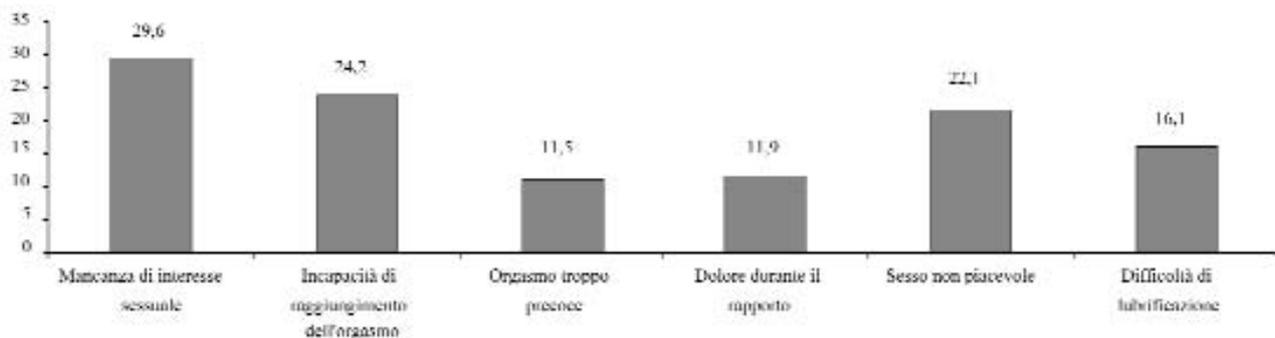


Fig. 1. Prevalenza delle disfunzioni sessuali della donna nella Europa meridionale (%) (da Studio GSSAB, adattata)¹⁷. *Prevalence of female sexual dysfunction in south Europe (%) (adapted, from GSSAB study)*¹⁷.

il 24% lamentasse problemi di lubrificazione vaginale inadeguata ed il 23% incapacità di raggiungimento dell'orgasmo. Grande importanza anche in queste popolazioni il retaggio socio-culturale oppure problemi economici, considerando che solamente il 21% di queste donne richiedeva un aiuto medico.

Laumann et al.¹⁷ hanno inoltre realizzato numerose analisi di correlazione tra disordine della sessualità e potenziali fattori di rischio biologici e non. In questo senso, ad esempio, l'incapacità di raggiungere l'orgasmo non sembrerebbe necessariamente correlata all'età della donna quanto, piuttosto, apparirebbe influenzata dalle condizioni di salute generale (es. diabete, comorbidità vascolari ed esiti chirurgici pelvici), dal tono dell'umore e dalle condizioni socio-economiche^{17 19}. Al contrario, le difficoltà di lubrificazione vaginale presenterebbero una relazione diretta con l'invecchiamento dell'individuo. Molto interessante però in questo senso il dato che benché esista un progressivo declino della funzione sessuale della donna lineare con l'invecchiamento – soprattutto nella ben studiata fase post-menopausale – sembrerebbe esistere con l'età stessa una paritetica diminuzione del distress soggettivo/oggettivo indotto dal disordine della sessualità, tanto da rendere meno significativi i dati di correlazione della compromissione della qualità della salute sessuale nella donna che invecchia rispetto agli allarmanti dati noti per la popolazione maschile²⁰.

Il background religioso, lo scarso livello di scolarità e la depressione, giocherebbero inoltre un ruolo fondamentale nell'aumentare l'incidenza di questo disturbo¹⁷. Una anamnesi positiva per trattamenti chirurgici radicali, come, per esempio, in caso di neoplasie ginecologiche o urologiche, sembrerebbe re-

sponsabile di una sensibile diminuzione della lubrificazione vaginale, sia per motivi prettamente anatomici (rimozione dell'innervazione clitoridea, exeresi della parete anteriore della vagina) che psicologici (cicatrici chirurgiche, derivazioni urinarie)^{17 21-24}.

I disordini da dolore durante la attività sessuale rappresentano un altro grande capitolo delle disfunzioni sessuali della donna^{12 17}, interessando soprattutto individui giovani, con limitata frequenza di rapporti sessuali e con scarse condizioni di salute generale¹⁷. Molto importanti, da ultimo, i fattori legati al ruolo del partner, la cui disfunzione erettile, ad esempio, si rifletterebbe in una maggiore prevalenza di difficoltà orgasmiche femminili^{17 25}.

Conclusioni

Le DSF rappresentano un affascinante nuovo campo di indagine della Medicina Sessuale. Benché spesso misconosciute o, più spesso, misdiagnosticate tutti gli studi testimoniano come queste interessino in termini di prevalenza una grande porzione della popolazione femminile. Un significativo ritardo della ricerca scientifica nelle indagini biologiche e cliniche come pure un invadente retaggio socio-culturale hanno tuttavia grande responsabilità nella lentezza con cui lo studio dei disordini della sessualità della donna sembrerebbe procedere. Appare però particolarmente importante l'investigazione della fisiologia e della fisiopatologia della sessualità femminile alla luce della significativa prevalenza del problema e del ruolo centrale che la donna riveste nel benessere complessivo della coppia. Molto si deve ancora apprendere.

Bibliografia

- 1 Mah K, Binik YM. *Are orgasms in the mind or the body? Psychosocial vs. physiological correlates of orgasmic pleasure and satisfaction*. J Sex Marital Ther 2005;31:187-200.
- 2 Moynihan R. *The making of a disease: female sexual dysfunction*. BMJ 2003;326:45-7.
- 3 Basson R, Berman J, Burnett A, Derogatis L, Ferguson D, Fourcroy J, et al. *Report of the International Consensus Development Conference on Female Sexual Dysfunction: Definitions and classifications*. J Urol 2000;163:888-93.
- 4 American Psychiatric Association. *DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th Ed. Washington D.C.: American Psychiatric Association 1994.
- 5 Basson R, Althof S, Davis S, Fugl-Meyer K, Goldstein I, Leiblum S, et al. *Summary of the recommendations on sexual dysfunctions in women*. J Sex Med 2004;1:24-34.
- 6 Basson R, Leiblum S, Brotto L, Derogatis L, Fourcroy J, Fugl-Meyer K, et al. *Definitions of Women's sexual dysfunctions reconsidered: advocating expansion and revision*. J Psychosom Obstet Gynecol 2003;24:221-9.
- 7 Berman JR, Berman LA, Werbin TJ, Goldstein I. *Female sexual dysfunction: anatomy, physiology, evaluation and treatment options*. Urology 1999;54:385-91.
- 8 Bancroft J, Graham CA, McCord C. *Conceptualizing women's sexual problems*. J Sex Marital Ther 2001;27:95-103.
- 9 Leiblum SR. *Critical overviews of the new consensus-based definitions and classifications on female sexual dysfunction*. J Sex Marital Ther 2001;27:159-68.
- 10 Basson R. *Human sex-response cycles*. J Sex Marital Ther 2001;27:33-43.
- 11 Tiefer L. *A new view of women's sexual problems: Why new?*

- Why now? *J Sex Res* 2001;38:89-96.
- ¹² Basson R. *Recent advances in women's sexual function and dysfunction*. *Menopause* 2004;11:714-25.
- ¹³ Simons JS, Carey MP. *Prevalence of sexual dysfunctions: results from a decade of research*. *Arch Sex Behav* 2001;30:177-219.
- ¹⁴ Frank E, Anderson C, Rubenstein D. *Frequency of sexual dysfunction in 'normal' couples*. *N Engl J Med* 1978;299:111-5.
- ¹⁵ Spector IP, Carey MP. *Incidence and prevalence of the sexual dysfunction: a critical review of the empirical literature*. *Arch Sex Behav* 1990;19:389-408.
- ¹⁶ Laumann EO, Paik A, Rosen RC. *Sexual dysfunction in the United States. Prevalence and predictors*. *JAMA* 1999;281:537-44.
- ¹⁷ Laumann EO, Nicolosi A, Glasser DB, Paik A, Gingell C, Moreira E, et al. for the GSSAB Investigators' Group. *Sexual problems among women and men aged 40-80 y: prevalence and correlates identified in the Global Study of Sexual Attitudes and Behaviors*. *Int J Impot Res* 2005;17:39-57.
- ¹⁸ Nicolosi A, Glasser DB, Kim SC, Marumo K, Laumann EO, GSSAB Investigators' Group. *Sexual behaviour and dysfunction and help-seeking patterns in adults aged 40-80 years in the urban population of Asian countries*. *BJU Int* 2005;95:609-14.
- ¹⁹ Abdo CH, Oliveira WM Jr, Moreira ED Jr, Fittipaldi JA. *Prevalence of sexual dysfunctions and correlated conditions in a sample of Brazilian women – results of the Brazilian study on sexual behavior (BSSB)*. *Int J Impot Res* 2004;16:160-6.
- ²⁰ Hayes R, Dannerstein L. *The impact of aging on sexual function and sexual dysfunction in women: a review of population-base studies*. *J Sex Med* 2005;2:317-30.
- ²¹ Zippe C, Nandipati K, Agarwal A, Raina R. *Sexual dysfunction after pelvic surgery*. *Int J Impot Res* 2005 (Epub ahead of print).
- ²² Stenzl A, Colleselli K, Poisel S, Feichtinger H, Pontasch H, Bartsch G. *Rationale and technique of nerve sparing radical cystectomy before an orthotopic neobladder procedure in women*. *J Urol* 1995;154:2044-9.
- ²³ Zippe CD, Raina R, Shah AD, Massanyi EZ, Agarwal A, Ulichaker J, et al. *Female sexual dysfunction after radical cystectomy: a new outcome measure*. *Urology* 2004;63:1153-7.
- ²⁴ Geiss IM, Umek WH, Dungal A, Sam C, Riss P, Hanzal E. *Prevalence of female sexual dysfunction in gynecologic and urogynecologic patients according to the international consensus classification*. *Urology* 2003;62:514-8.
- ²⁵ Greenstein A, Abramov L, Matzkin H, Chen J. *Sexual dysfunction in women partners of men with erectile dysfunction*. *Int J Impot Res* 2005 (Epub ahead of print).

Domanda 1: Quali sono i disturbi della sessualità della donna secondo la classificazione proposta dalla Consensus Conference del 1998, organizzata dal Sexual Function Health Council dell'American Foundation for Urologic Disease, e sottoposta a revisione critica nel 2003?

- Disturbi emotivi sessuali, disturbi del pensiero sessuale, disturbi della libido, disturbi del rapporto di coppia
- Disordine da desiderio sessuale ipoattivo, disordini dell'eccitamento sessuale soggettivo, disordini dell'eccitamento sessuale genitale, disordini dell'eccitamento sessuale misto, disordine da eccitamento sessuale persistente, disordini della fase orgasmica, disturbi da dolore sessuale – dispareunia
- Disordine da desiderio sessuale ipoattivo, disordini dell'eccitamento sessuale genitale, disordine da eccitamento sessuale persistente, disordini della fase orgasmica, dispareunia
- Nessuna delle precedenti

Domanda 2: Quali di questi aspetti si può associare alla comparsa di disordini della sessualità della donna?

- Il background religioso, lo scarso livello di scolarità e la depressione
- Un'anamnesi positiva per trattamenti chirurgici radicali, come, per esempio, in caso di neoplasie ginecologiche o urologiche
- Fattori legati al ruolo del partner, la cui disfunzione erettile, ad esempio, potrebbe condizionare una maggiore prevalenza di difficoltà orgasmiche femminili
- Periodo di transizione della menopausa ed il crollo progressivo degli estrogeni circolanti
- Tutte le precedenti risposte sono corrette

Domanda 3: Qual è la prevalenza di disordini della sessualità della donna dimostrata dallo studio di Laumann relativo al campione del Health and Social Life Survey nord americano?

- 67%
- 43%
- 31%
- 25%
- Nessuna delle precedenti

Domanda 4: Secondo il recente studio epidemiologico internazionale su larga scala definito *Global Study of Sexual Attitudes and Behaviours* (GSSAB) qual è la prevalenza di mancanza di interesse nei confronti della sessualità da parte delle donne intervistate?

- a. 26-43%
- b. 34%
- c. 56%
- d. 21%
- e. 11%

Domanda 5: Secondo il recente studio epidemiologico internazionale su larga scala definito *Global Study of Sexual Attitudes and Behaviours* (GSSAB) qual è la prevalenza di deficit di raggiungimento dell'orgasmo lamentato dalla popolazione femminile?

- a. 26-43%
- b. 18-41%
- c. 56%
- d. 21%
- e. 11%

Erezioni correlate al sonno: fisiologia, tecniche di indagine e loro ruolo nella valutazione del paziente con deficit erettivo

Sleep-related erections: physiology, techniques of evaluation and their role in the study of the patient with erectile dysfunction

G. DE MOLA, A. SANGUANINI, V. ROCHIRA, L. ZIRILLI, C. CARANI, A.R.M. GRANATA

Cattedra di Endocrinologia, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

Parole chiave: Disfunzione erettile, Sonno, REM, Erezione, Diagnosi

Key words: Erectile dysfunction, Sleep, REM, Erection, Diagnosis

Riassunto

La fase del sonno caratterizzata da rapidi movimenti oculari si associa ad una erezione peniena. Lo studio delle erezioni correlate al sonno (ECS) contribuisce al primo obiettivo diagnostico nello studio della disfunzione erettile (DE): comprendere se la DE sia su base organica o su base psicogena. Le prime tecniche impiegate per studiare le ECS davano una informazione incompleta, valutando solo la tumescenza del pene; successivamente si è resa disponibile anche la valutazione della rigidità. Sebbene la rigidità assiale del pene sia più attendibile nello studio della DE rispetto alla rigidità radiale, solo quest'ultima può essere monitorata in modo continuo. I limiti del monitoraggio delle ECS non permettono una diagnosi differenziale certa tra disfunzione erettile su base organica e su base psicogena, ma questo test ha un ruolo diagnostico importante se interpretato insieme con una più ampia valutazione del soggetto.

Summary

The cycle of rapid eye movement sleep is associated with penile erection. The study of sleep-related erections (SRE) contributes to the differential diagnosis for erectile dysfunction (ED), which can be due to an organic or a psychogenic cause. The pioneering devices for the study of SRE could only evaluate penile tumescence; nowadays also radial and axial penile rigidity can be evaluated. However only radial rigidity can be monitored continuously even if axial rigidity is more relevant in the study of ED. The study of SRE does not provide a neat differential diagnosis between organic and psychogenic ED, but this diagnostic tool has an important role if the data which can be obtained are interpreted within a wider study of the patient.

Introduzione

Importanti sforzi sono stati compiuti dalla ricerca per definire la fisiologia dell'erezione peniena, ampliando la comprensione dei meccanismi coinvolti nei vari quadri patologici che si associano a deficit erettivo (DE) ¹ ². Tuttavia, la fisiologia dell'erezione non è ancora completamente compresa. I dubbi riguardano anche le indagini da proporre nello studio di un uomo affetto da DE; in particolare, è in discussione la sequenza con cui proporre queste indagini ¹⁻⁶. D'altro canto, il primo sforzo diagnostico in ambito di DE consiste nel comprendere se si tratti di DE su base psicogena o organica, quest'ultima spesso responsabile di una successiva componente anche psicogena ⁷⁻⁹.

Lo studio della funzione sessuale maschile si è avvalso e si avvale tutt'oggi di una intervista sessuologica, che in

un passato ancora recente rappresentava l'unica arma diagnostica insieme all'esame obiettivo ¹⁰. Tuttavia, l'attuale valorizzazione dell'intervista sessuologica e l'impiego di questionari mirati ¹¹ ¹² si associano spesso ad una scarsa attendibilità delle informazioni fornite dal soggetto affetto da DE. Questo importante limite dell'intervista e dei questionari ha promosso gli sforzi del medico per oggettivare il dato anamnestico ed è in questo ambito che si inserisce il monitoraggio delle erezioni durante il sonno. Uno dei primi articoli in cui si faccia riferimento alle erezioni correlate al sonno (ECS) risale al 1944: Ohlmeyer et al. ¹³ osservavano la presenza di erezioni durante il sonno, che si presentavano circa ogni 84,5 minuti e con una durata media di 25,5 minuti; veniva inoltre documentato che le ECS sono presenti in ogni fascia di età ¹⁴. La successiva disponibilità dell'elettroencefalografia e dell'elettromiografia permetteva di riconoscere diverse fasi del

sonno, portando all'osservazione che le ECS si verificano durante la fase del sonno caratterizzata da rapidi movimenti oculari (fase REM)¹⁵. Tuttavia, dopo le prime osservazioni ufficiali di ECS, sono necessari circa 20 anni per poter giungere ad una inequivocabile correlazione tra fase REM e le stesse ECS^{15 16}.

Fisiologia delle erezioni notturne REM-correlate

Mancano dati che permettano di interpretare i meccanismi specifici alla base delle erezioni REM-correlate, eccetto la loro ben documentata androgeno-dipendenza¹⁷. Quindi, come per le erezioni nel soggetto sveglio, resta ipotizzabile un ruolo centrale del sistema limbico ed anche un coinvolgimento di altre aree cerebrali quali la regione preottica, l'ipotalamo laterale e la parte anteriore del giro cingolato¹⁸. Il cervello esercita una modulazione sia eccitatoria che inibitoria sui meccanismi spinali coinvolti nell'erezione, ma alcune aree cerebrali agiscono con un costante controllo inibitorio dell'erezione attraverso il sistema simpatico. Nel soggetto sveglio stimoli sensitivi e psicogeni attivano alcuni siti di talamo ed ipotalamo, inducendo un'erezione tramite l'inibizione del centro simpatico toraco-lombare (T12-L2) e la conseguente riduzione del tono adrenergico nel pene².

Mentre vi sono dubbi sui meccanismi centrali che portano alle erezioni REM-correlate, sta facendosi strada una interpretazione della loro presenza. Infatti, negli spazi sinusoidali vi è una PO_2 ematica di 20-40 mmHg a pene flaccido, che diventa di 90-100 mmHg a pene eretto¹⁹⁻²³. La PO_2 associata alla fase flaccida favorirebbe la sintesi di *Transforming Growth Factor- β_1* (TGF- β_1) nelle cellule muscolari lisce del corpo cavernoso, a cui seguirebbe la sintesi di collagene e di tessuto connettivo e la deposizione di questi nelle trabecole del corpo cavernoso^{24 25}. Alcuni studi suggeriscono che l'aumento del collagene e la riduzione compensatoria delle cellule muscolari lisce promuova la DE^{19 26-30}, mentre l'ossigenazione associata all'erezione promuoverebbe la disponibilità di fattori inibenti la sintesi di TGF- β_1 e di collagene. Pertanto, le erezioni REM-correlate avrebbero un ruolo protettivo sui tessuti del pene.

Metodi di indagine delle erezioni notturne

Un passo importante nello studio delle ECS si ebbe con la costruzione di una apparecchiatura per il mo-

nitaggio di queste erezioni. Questa strumentazione misura solo la tumescenza del pene ed impiega anelli di gomma da applicare al pene e all'interno dei quali vi è del mercurio³¹. La variazione della tumescenza del pene e la conseguente variazione della circonferenza degli anelli si associa ad una diversa sezione del mercurio e ad una diversa resistenza offerta da questo al passaggio di corrente; un trasduttore legge la resistenza del mercurio come tumescenza del pene. Oltre a non misurare la rigidità del pene, un altro limite di questa strumentazione è dato dal fatto che un importante aumento del diametro del pene può associarsi ad una discontinuità del mercurio e quindi ad interruzione del passaggio di corrente e conseguente interruzione della misurazione della tumescenza.

Dopo le prime osservazioni sulle ECS occorrerà attendere molti anni prima di iniziare ad attribuire a queste erezioni un significato diagnostico per la DE, con ECS normali nei soggetti affetti da DE su base psicogena e con ECS caratterizzate da scarso incremento di tumescenza nella DE su base organica^{32 33}. Queste prime e schematiche interpretazioni diagnostiche delle ECS sollevarono critiche sulla metodologia di reclutamento dei soggetti esaminati³⁴; infatti in un successivo studio condotto con maggiore rigore scientifico si osservava una concordanza del solo 80% tra l'ipotesi clinica e l'esito del monitoraggio della tumescenza peniena notturna (NPTM)³⁴, confermando comunque l'utilità dello NPTM nello studio della DE. Tuttavia ulteriori osservazioni sottolineavano i limiti dello NPTM, come un deficit dell'incremento di tumescenza in associazione con sogni ad alto contenuto ansigeno^{16 35} e in soggetti affetti da depressione maggiore³⁶. Altri limiti erano rappresentati dalla possibilità di NPTM deficitario in soggetti senza dati clinici che suggerissero una DE su base organica³⁷ e dalla ampia sovrapponibilità dell'entità dell'incremento di tumescenza tra soggetti di controllo e soggetti con DE su base verosimilmente organica^{38 39}.

Comunque, lo NPTM aveva ormai acquisito un suo spazio tra le indagini per la diagnosi di DE e questo portò alla ricerca di metodiche simili a questo esame ma meno costose. Nel 1980 veniva proposto lo *stamp test*⁴⁰: una striscia continua di 4-6 francobolli applicata ad anello sul corpo del pene, con il primo e l'ultimo francobollo incollati uno sull'altro. Il rationale dello stamp test consisteva nell'ipotesi che solo un sufficiente aumento della tumescenza peniena avrebbe determinato la rottura dell'anello di francobolli. Anche lo *stamp test* mostrò dei limiti importanti: in alcuni soggetti l'anello di francobolli non si rompeva

nonostante una erezione completa⁴¹ oppure l'anello si rompeva anche con una erezione non completa⁴². Un miglioramento dello *stamp test* fu rappresentato dagli *snap-gauge*⁴³ (Fig. 1). Questi sono costituiti da un anello di tessuto da applicare saldamente al pene flaccido; il tessuto è interrotto da tre bande di plastica con diverso colore e diversa resistenza alla distensione. Il numero di bande elastiche che si rompono è strettamente correlato con l'aumento di tumescenza del pene. La banda elastica più fragile si rompe con un incremento di tumescenza del pene di almeno 12 mm⁴³, con la tumescenza misurata come circonferenza del corpo del pene; ma l'ampia variabilità dell'incremento di tumescenza necessario per rompere le bande elastiche ha suggerito che gli *snap-gauge* misurino la rigidità e non la tumescenza⁴³. Condra et al.⁴⁴ osservavano la rottura di tutte le bande elastiche se queste venivano sollecitate da una rigidità superiore al 54%. Quindi si fa strada l'importanza di poter documentare anche la rigidità del pene in erezione e non solo l'incremento di tumescenza. Infatti, dopo una fase iniziale in cui si riteneva che l'incremento di tumescenza equivalesse alla rigidità^{45,46}, più osservazioni suggerirono che questi 2 parametri non fossero sinonimi⁴⁷⁻⁵⁰. Oggigiorno possono essere studiate sia la rigidità peniena radiale che quella assiale; quest'ultima rappresenta una valutazione più attendibile della rigidità necessaria al coito vaginale e se ne è stimato un valore minimo di normalità pari a 550 g⁵¹. La misurazione della rigidità assiale viene eseguita con un dinamometro cilindrico (Fig. 2) che viene applicato sul



Fig. 1. Immagine di *snap-gauge*. Il dispositivo è costituito da un anello di tessuto da applicare al pene flaccido; il tessuto è interrotto da tre bande di plastica con diverso colore e diversa resistenza alla distensione. Il numero di bande elastiche che si rompono è più strettamente correlato con l'aumento di tumescenza del pene che con la sua rigidità. Questo dispositivo non permette il monitoraggio delle erezioni. *Picture of snap-gauge. This device consists of a band that encircles the flaccid penis. The band is interrupted by 3 plastic elements, each a different colour and a different resistance to tension. The number of plastic elements which break is more strictly related to penile increase of tumescence than to penile rigidity. This device can not provide erections continuous monitoring.*



Fig. 2. Immagine del dinamometro impiegato per la misurazione della rigidità assiale. L'apparecchiatura viene applicata sul glande esercitando un carico assiale; viene misurata la forza minima necessaria a far flettere l'asta peniena (test di *buckling*). *Picture of the dynamometer used to measure axial rigidity. This device is applied against the glans in order to apply an axial load. The aim of using this device is to measure the minimum force which is needed to bend the penile shaft (buckling test).*

glande; esercitando un carico assiale viene misurata la forza minima necessaria a far flettere l'asta peniena (test di *buckling*). Il limite del rilevamento della rigidità assiale è dato dall'impossibilità di una registrazione continua e dalla necessità di disturbare durante il sonno il soggetto in esame; pertanto lo studio di questa rigidità viene eseguito prevalentemente sul soggetto sveglio per valutare la risposta peniena ad un farmaco e/o ad uno stimolo erotico, che solitamente è visivo o acustico.

La strumentazione più impiegata per la valutazione prolungata delle ECS è denominata RigiScan⁵² (*Dacomed Corporation*) (Fig. 3); questa apparecchiatura misura simultaneamente la rigidità radiale e la tumescenza del pene. È attualmente disponibile una versione del RigiScan a cui sono stati apportati dei miglioramenti, il RigiScan Plus (*Urohealth System Corporation*). Il RigiScan è alimentato anche a pile e presenta un corpo-macchina e due cavetti; il corpo-macchina è fornito di un trasduttore e di una memoria e va applicato ad una coscia del soggetto con l'aiuto di una guaina; dal corpo-macchina si diparto-

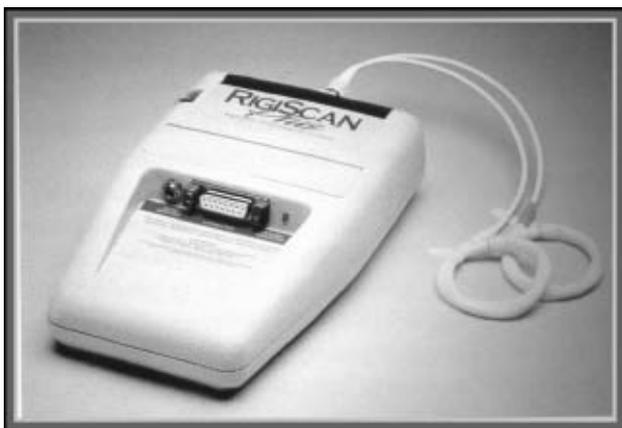


Fig. 3. Immagine dell'apparecchiatura RigiScan per il monitoraggio delle erezioni del pene. Il RigiScan misura la rigidità radiale e la tumescenza peniene, ma non misura la rigidità assiale. *Picture of RigiScan device for penile erections monitoring. RigiScan measures radial rigidity and penile tumescence, but does not measure axial rigidity.*

no due cavetti di cui una estremità è collegata con il trasduttore e l'altra estremità termina con un anello; i due anelli vanno applicati rispettivamente alla base del pene e nel solco balano-prepuziale. Il RigiScan può misurare una circonferenza tra i 50 mm ed i 150 mm; la rigidità rilevabile è espressa in percentuale rispetto a 2,8 N, che è la forza esercitata dagli anelli sul pene. La circonferenza del pene viene rilevata ogni 15 secondi e la rigidità ogni 3 minuti; se la circonferenza fa registrare un aumento superiore ai 3 mm, la rigidità viene registrata ogni 30 secondi; tutti questi dati vengono memorizzati dal RigiScan, che andrà collegato ad un computer per la lettura del monitoraggio della rigidità e della tumescenza peniene notturne (NPTRM). Questa strumentazione ha memoria sufficiente per 3 registrazioni della durata massima di 10 ore ciascuna ed il suo impiego può essere associato allo studio del sonno, poiché di solito questo viene disturbato minimamente o affatto dallo NPTRM⁵³. Riteniamo opportuno eseguire il test per almeno due notti consecutive, onde promuovere un adattamento al test ed un aumento dell'attendibilità dei risultati dello NPTRM. Preferiamo proporre lo NPTRM a domicilio dopo avere fornito al paziente istruzioni sull'impiego del RigiScan; l'eventuale esecuzione dello NPTRM durante ospedalizzazione richiede l'impiego di una camera isolata acusticamente o ubicata in un settore tranquillo dell'edificio.

Anche per l'incremento di tumescenza, espresso come variazione della circonferenza, e per la rigidità registrabili con il RigiScan si è posta la necessità di in-

dividuare dei valori di soglia di normalità, riconducibili al minimo incremento ed alla minima rigidità sufficienti ad una penetrazione vaginale. A questo riguardo manca una omogeneità di pareri, ma la letteratura suggerisce che una ECS normale debba essere caratterizzata da un incremento di tumescenza di almeno 20 mm e da una rigidità di almeno il 60%⁵⁴⁻⁵⁸. Un importante contributo all'interpretazione dei dati ottenibili con RigiScan Plus è rappresentato dal calcolo dell'area sottesa alla curva relativa rispettivamente alla rigidità (*rigidity activity unit* – RAU) e all'incremento di tumescenza rispetto alla tumescenza basale (*tumescence activity unit* – TAU) nello studio di una data erezione. Il RigiScan è utilizzabile anche per registrazioni in tempo reale per valutare la risposta peniena ad un farmaco e/o ad uno stimolo erotico, che solitamente è visivo o acustico.

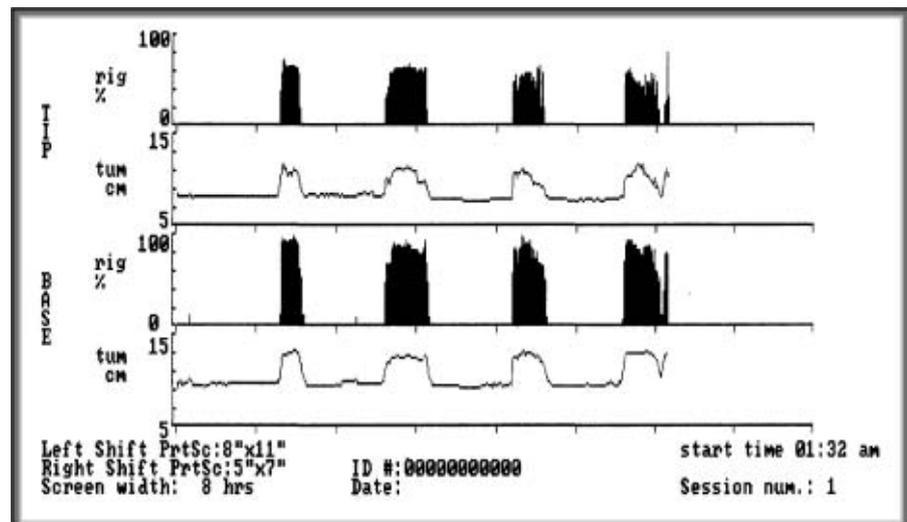
Noi consideriamo normale una ECS caratterizzata da una rigidità pari ad almeno il 60% e da un incremento di tumescenza di almeno 30 mm, dove questi due parametri presentino queste caratteristiche per almeno 5 minuti consecutivi¹⁷ (Fig. 4). Al numero di erezioni durante NPTRM non attribuiamo il ruolo di un parametro di riferimento, mentre usiamo il numero di erezioni per interpretare in modo indiretto ed approssimativo la qualità del sonno data l'associazione tra sonno REM ed erezione del pene^{13 15}. Bradley et al.⁵⁹ hanno proposto che le ECS siano mediamente 4 durante il sonno notturno, ma ovviamente il numero di ECS è influenzato dalla durata del sonno e dalla frequenza delle fasi REM.

Munoz et al.⁶⁰ hanno rilevato importanti differenze tra le rigidità rilevate da differenti RigiScan, pertanto nell'ambito della ricerca è suggeribile l'impiego di un singolo RigiScan onde evitare che più strumentazioni forniscano una valutazione della rigidità non sovrapponibile.

Nel confronto tra la registrazione delle rigidità radiale e assiale il RigiScan, che misura la rigidità radiale, sembra non distinguere con accuratezza una rigidità assiale compresa tra i 450 g ed i 900 g; poiché la soglia di normalità della rigidità assiale è di 550 g, il RigiScan potrebbe non essere affidabile nell'individuare un deficit erettivo di modesta entità⁵⁴. Altre osservazioni⁵⁶ suggeriscono che esiste una buona correlazione tra rigidità assiale e rigidità radiale solo quando quest'ultima sia inferiore al 60%. La non costante correlazione tra queste due rigidità è da ricondurre al fatto che, sebbene dipendano entrambe dalla pressione intracavernosa, dipendono anche da altri fattori: la rigidità assiale dipende anche da proprietà del tessuto cavernoso e dalla geometria del pene; la

Fig. 4. Grafico relativo al monitoraggio delle erezioni correlate al sonno in un soggetto non affetto da disfunzione erettile. *Graph concerning sleep-related erections monitoring in a subject not affected by erectile dysfunction.*

TIP = Registrazione a livello del solco balano-prepuziale; BASE = Registrazione a livello della base; tum = Circonferenza del pene (cm); rig = Rigidità del pene (%); Il tempo è riportato in ascissa (ore).



rigidità radiale potrebbe dipendere anche da caratteristiche della tunica albuginea⁵⁶.

Infine, è stato recentemente proposto l'impiego dell'elettroimpedenziometria volumetrica per lo studio delle erezioni durante il sonno⁶¹; l'apparecchiatura a ciò designata è denominata "nocturnal electroimpedance volumetric assessment" (NEVA) (Urometrics, Inc., St. Paul, Minnesota). Come per il RigiScan, il NEVA (Fig. 5) è composto di un corpo-macchina e due cavetti; il corpo-macchina è fornito di un trasduttore e di una memoria e va applicato ad una coscia del soggetto con l'aiuto di una guaina; dal corpo-macchina si dipartono due cavetti di cui una estremità è collegata con il trasduttore e l'altra estremità termina con due elettrodi anulari; le due coppie di elettrodi vanno applicate rispettiva-

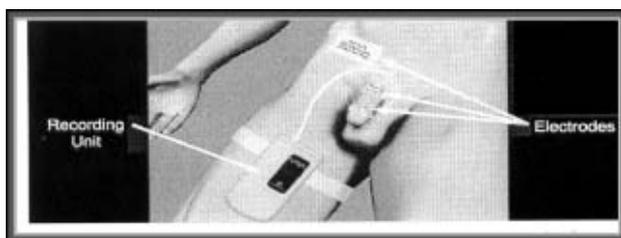


Fig. 5. Immagine dell'apparecchiatura NEVA per il monitoraggio delle erezioni peniene correlate al sonno mediante elettroimpedenziometria volumetrica. Questa apparecchiatura misura le dimensioni del pene (variazioni di lunghezza, volume e sezione trasversale) e le variazioni di volume ematico al suo interno; non misura la rigidità del pene. *Picture of NEVA device for sleep-related penile erections monitoring by electroimpedance volumetric assessment. This device measures penile size (change in penile length, volume and cross-sectional area) and penile blood volume change. NEVA does not measure penile rigidity.*

mente alla base del pene e nel solco balano-prepuziale. Il NEVA permette la registrazione continua delle erezioni durante il sonno; questa strumentazione rileva le dimensioni del pene (variazioni di lunghezza, volume e sezione trasversale) e le variazioni di volume ematico al suo interno, ma non misura la rigidità peniena.

Significato clinico odierno del monitoraggio delle erezioni notturne

Sebbene non siano stati confermati gli entusiasmi e preliminari risultati di Karacan et al.^{32,33} che suggerivano ECS nella norma nel soggetto con DE su base psicogena e ECS compromesse nella DE su base organica, tuttavia lo NPTRM conserva un ruolo diagnostico differenziale tra DE su base psicogena e DE su base organica^{3,9,62} anche in considerazione della non praticità della registrazione della rigidità assiale durante il sonno e delle difficoltà tuttora presenti nel porre una diagnosi di DE su base psicogena. Inoltre, è necessario segnalare che le indagini strumentali per DE condotte sul soggetto sveglio possono associarsi ad una risposta peniena condizionata da fattori esterni ansiogeni⁶³⁻⁶⁶. Recenti linee guida relative all'approccio diagnostico della DE riservano l'impiego dello NPTRM a casi selezionati, come in pazienti con DE primaria, in pazienti in cui i dati clinici ed anamnestici non permettano una attendibile interpretazione della DE in senso psicogeno o organico, in pazienti che facciano specifica richiesta di questo test, in situazioni associate a risvolti medico-legali. Lo NPTRM trova un importante impiego anche in studi clinici e trial su farmaci.

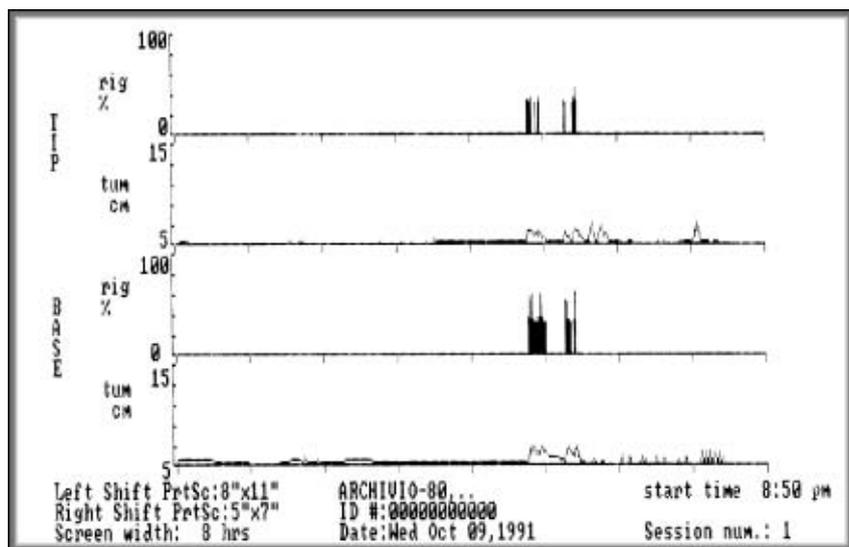


Fig. 6. Grafico relativo al monitoraggio delle erezioni correlate al sonno. Vedere domande. *Graph concerning sleep-related erections monitoring. See questions.*

È opportuno ricordare che l'attendibilità dell'interpretazione dei risultati dello NPTRM è limitata da più fattori. Innanzitutto, esistono dubbi sulla identità dei meccanismi alla base delle ECS e delle erezioni durante attività sessuale^{89,17}. La DE su base psicogena non si associa sempre a NPTRM³⁴ e NPTRM⁶⁷ nella norma. Sogni a contenuto ansiogeno alterano lo NPTRM⁶⁸ e anche la depressione maggiore si associa a NPTRM anomalo⁶⁹⁻⁷¹. Inoltre, anche in soggetti sani e senza DE le ECS possono risultare deficitarie per rigidità e tumescenza⁷². Ancora, è ampiamente documentata una androgeno-dipendenza delle ECS, sebbene queste risultino pressoché costantemente compromesse solo in presenza di una severa ipotestosteronemia¹⁷; pertanto uno NPTRM alterato e associato ad una modesta ipotestosteronemia giustifica altri sforzi diagnostici e non il solo avvio di una terapia androgeno-sostitutiva. Infine, esistono due specifiche condizioni in cui la DE su base organica può associarsi ad uno NPTRM nella norma: una alterata conduttività del nervo dorsale del pene⁷³ e la sindrome del furto pelvico⁷⁴. È importante sottolineare che, in aggiunta alle condizioni sopra elencate, l'attendibilità dell'interpretazione dei risultati dello NPTRM risulta limitata in presenza di qualsiasi disturbo del sonno caratterizzato da una alterazione della fase REM; infatti, una alterazione di questa fase del sonno può ripercuotersi sulle erezioni peniene ad essa correlate, limitandone il valore clinico e diagnostico.

Comunque, nonostante i limiti dello NPTRM sopra descritti, alcuni quadri patologici mostrano ECS con caratteristiche relativamente costanti:

a) l'ipotestosteronemia severa si associa a massima rigidità e massimo incremento di tumescenza deficitari e ad una breve durata di questi due parametri¹⁷;

b) in presenza di arteriopatia si osserva un ridotto numero di ECS con deficit di rigidità e di incremento di tumescenza e con una frequente dissociazione tra i dati rilevati alla base del pene e quelli rilevati al solco balano-prepuziale⁷;

c) nei soggetti con DE associata ad incompetenza del meccanismo veno-occlusivo penieno il dato più saliente sembra essere la breve durata delle ECS, che sono invece incostantemente caratterizzate da deficit di rigidità e di incremento di tumescenza⁷;

d) nella DE dovuta a neuropatia le ECS sono più spesso del tutto nella norma, ma sono presenti dissociazioni tra i dati relativi al solco balano-prepuziale e quelli relativi alla base del pene⁷.

Un nuovo ed importante motivo che valida lo NPTRM è dato dal ruolo attualmente accreditato alle ECS nell'ambito della fisiologia della funzione erettiva peniena. Infatti, negli spazi sinusoidali vi è una PO_2 ematica di 20-40 mmHg a pene flaccido, che diventa di 90-100 mmHg a pene eretto¹⁹⁻²³. La PO_2 associata alla fase flaccida favorirebbe la sintesi di *Transforming Growth Factor- β_1* (TGF- β_1) nelle cellule muscolari lisce del corpo cavernoso, a cui seguirebbe la sintesi di collagene e di tessuto connettivo e la deposizione di questi nelle trabecole del corpo cavernoso^{24,25}. Alcuni studi suggeriscono che l'aumento del collagene e la riduzione compensatoria delle cellule muscolari lisce promuova la DE^{19,26-30}, mentre l'ossigenazione associata all'erezione promuoverebbe la disponibilità di fattori inibenti la sintesi di TGF- β_1 e di collagene. Poiché si ritiene che un uomo sano presenti ECS per una durata complessiva di 1-3,5 ore per notte⁷⁵, alla luce di quanto detto sopra lo NPTRM risulta importante nel soggetto affetto da DE.

Conclusioni

In conclusione, lo NPTRM non permette di discriminare con certezza assoluta tra DE psicogena e DE organica, ma in casi selezionati rappresenta un impor-

tante strumento diagnostico se viene impiegato ed interpretato sulla base di una valutazione anamnestica e clinica e sulla base di altre eventuali indagini strumentali del soggetto in esame.

Bibliografia

- ¹ Hafes ES, Hafes SD. *Erectile dysfunction: anatomical parameters, etiology, diagnosis, and therapy*. Arch Androl 2005;51:15-31.
- ² Giuliano F, Rampin O. *Neural control of erection*. Physiol Behav 2004;83:189-201.
- ³ Carani C, Rochira V, Granata ARM. *Sexuality and erectile dysfunction*. Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes. Oxford University Press 2002:1341-50.
- ⁴ Jardin A, Wagner G, Khoury S, Giuliano F, Padma-Nathan H, Rosen R. *Erectile Dysfunction*. Plymouth: Health Publication Ltd 2000.
- ⁵ Lue TF, Basson R, Rosen R, Giuliano F, Khoury S, Montorsi F. *Sexual Medicine*. Paris: Health Publication Ltd 2004.
- ⁶ Wespes E, Amar E, Hatzichristou D, Montorsi F, Pryor J, Vardi Y. *Guidelines on Erectile Dysfunction*. Eur Urol 2002;41:1-5.
- ⁷ Pozza D, Marchionni L, Gregori A, Peluso A. *Lo studio delle erezioni notturne con Rigiscan Sistem nella diagnosi differenziale dei deficit erettili*. Riv Sci Sessuol 1989;2:85-94.
- ⁸ Morales A, Condra M, Reid K. *The role of nocturnal penile tumescence monitoring in the diagnosis of impotence: a review*. J Urol 1990;143:441-6.
- ⁹ Morales A, Condra M, SurrIDGE DH, Heaton JP. *Nocturnal penile tumescence monitoring: is it necessary?*. World book of impotence 1992;V:67-73.
- ¹⁰ Condra M, Morales A, SurrIDGE D, Marshall P, Fenemore J. *Evaluation of the urological assessment in impotence: findings with new diagnostic rating scale*. J Urol 1984;131:486.
- ¹¹ Rosen RC, Cappelleri JC, Gendrano N III. *The International Index of Erectile Function (IIEF): a state-of-the-science review*. Int J Impot Res 2002;14:226-44.
- ¹² Gregoire A. *Questionnaires and rating scales*. In: Gregoire A, Pryon JP, eds. *Impotence: an Integrated Approach to Clinical Practice*. New York: Churchill Livingstone 1993, pp. 97-105.
- ¹³ Ohlmeyer P, Brilmayer H, Hullstrung H. *Periodische Vorgänge im Schlaf pflug*. Arch Ges Physiol 1944;248:559-60.
- ¹⁴ Karacan I, Williams RL, Thornby JJ, Salis PJ. *Sleep-related penile tumescence as function of age*. Am J Psychiat 1975;132:932-7.
- ¹⁵ Fischer C, Gross J, Zuch J. *Cycle of penile erections synchronous with dreaming (REM) sleep: preliminary report*. Arch Gen Psychiatry 1965;12:29-45.
- ¹⁶ Karacan I, Goodenough DR, Shapiro A, Starker S. *Erection cycle during sleep in relation to dream anxiety*. Arch Gen Psychiat 1966;15:183-9.
- ¹⁷ Granata AMR, Rochira V, Lerchl A, Marrana P, Carani C. *Relationship Between Sleep-Related Erections and Testosterone Levels in Man*. J Androl 1997;18:522-7.
- ¹⁸ Bancroft J. *The biological basis of human sexuality*. In: *Human Sexuality and its Problems A broad perspective of sexuality*. Singapore: Longman 1989, pp. 12-145.
- ¹⁹ Nehra A, Goldstein I, Pabby A, Nugent M, Huang YH, de las Morenas A, et al. *Mechanisms of venous leakage: a prospective clinicopathological correlation of corporeal function and structure*. J Urol 1996;156:1320-9.
- ²⁰ Kim N, Vardi Y, Padma-Nathan H, Daley J, Goldstein I, Saenz de Tejada I. *Oxygen tension regulates the nitric oxide pathway: physiological role in penile erection*. J Clin Invest 1993;91:437-43.
- ²¹ Sattar AA, Salpigides G, Vanderhaeghen JJ, Schueman CC, Wespes E. *Cavernous oxygen tension and smooth muscle fibers: relation and function*. J Urol 1995;154:1736-9.
- ²² Brown S, Seftel AD, Strohl K. *Cavernosal oxygen tension and corporal ischemia*. J Urol 1997;157:179.
- ²³ Rossellò-Barbarà M, Santiseban M. *Corpus cavernosum fibrosis treated with oxygenated and pressurized arterial blood: encouraging preliminary results. New electronic vacuum plus treatment*. J Urol 1997;157:202.
- ²⁴ Moreland RB, Nebra A, Watkins M. *Oxygen tension modulates TGF- β 1-expression and PGE production in human corpus cavernosum smooth muscle cells*. Mol Urol 1998;2:41-7.
- ²⁵ Moreland RB. *Is there a role of hypoxemia in penile fibrosis: a viewpoint presented to the Society for the Study of Impotence*. Int J Impot Res 1998;10:113-20.
- ²⁶ Mersdorf A, Goldsmith PC, Diederichs W, Padula CA, Lue TF, Fishman IJ, et al. *Ultrastructural changes in impotent penile tissue: a comparison of 65 patients*. J Urol 1991;145:749-58.
- ²⁷ Jevtich M, Khawand NY, Vidic B. *Clinical significance of ultrastructural findings in the corpus cavernosum of normal and impotent man*. J Urol 1990;143:289-93.
- ²⁸ Wespes E, Goes PM, Schiffmann S, Depierreux M, Vanderhaeghen JJ, Schulman CC. *Computerized analysis of smooth muscle fibers in impotent and impotent patients*. J Urol 1991;146:1015-7.
- ²⁹ Luangkhot R, Rutchik S, Agarwal V, Puglia K, Bhargava G, Melman A. *Collagen alterations in the corpus cavernosum of men with sexual dysfunction*. J Urol 1992;148:467-71.
- ³⁰ Wespes E, de Goes PM, Sattar AA, Schulman C. *Objective criteria in the long-term evaluation of penile venous surgery*. J Urol 1994;152:888-95.
- ³¹ Jovanovic UJ. *A new method of phallography (PhG)*. Confin Neurol 1967;29:299-12.
- ³² Karacan I, Schott FB, Salis PJ, Attia SL, Ware JC, Altinel A, et al. *Nocturnal erections, differential diagnosis of impotence, and diabetes*. Biol Psych 1977;12:373-80.
- ³³ Karacan I, Salis PJ, Ware JC, Dervent B, Williams RL, Schott FB, et al. *Nocturnal penile tumescence and diagnosis in diabetic impotence*. Am J Psych 1978;135:191-7.

- ³⁴ Marshall P, Morales A, SurrIDGE D. *Diagnostic significance of penile erections during sleep*. Urology 1982;21:1-6.
- ³⁵ Fisher C. *Dreaming and sexuality*. In: *Psychoanalysis-A General Psychology*. New York: International Universits Press 1966, pp. 537-569.
- ³⁶ Roose SP, Glassman AH, Walsh BT, Cullen K. *Reversible loss of nocturnal penile tumescence during depression: a preliminary report*. Neuropsychobiology 1982;8:284-8.
- ³⁷ Fischer C, Schiavi R, Lear H, Edwards A, Davis DM, Witkin AP. *The assessment of nocturnal REM erections in the differential diagnosis of sexual impotence*. J Sex Marital Ther 1975;1:277-89.
- ³⁸ Kennep D, Gonick P. *Home monitoring of penile tumescence for erectile dysfunction. Initial experience*. Urology 1979;14:261-4.
- ³⁹ Marshall P, Morales A, SurrIDGE D. *Diagnostic significance of penile erections during sleep*. Urology 1982;20:1-6.
- ⁴⁰ Barry JM, Blank B, Boileau M. *Nocturnal penile tumescence monitoring with stamps*. Urology 1980;15:171-2.
- ⁴¹ Marshall P, Earls C, Morales A, SurrIDGE D. *Nocturnal penile tumescence recording with stamps: a validity study*. J Urol 1982;128:946-7.
- ⁴² Marshall PG, Morales A, Phillips P, Fenemore J. *Nocturnal penile tumescence with stamps: a comparative study under sleep laboratory conditions*. J Urol 1983;130:88-9.
- ⁴³ Ek A, Bradley WE, Krane RL. *Snap-Gauge band: new concept in measuring penile rigidity*. Urology 1983;21:63.
- ⁴⁴ Condra M, Fenemore J, Reid K, Phillips P, Morales A, Owen J, et al. *Screening assessment of penile tumescence and rigidity: clinical test of Snap-Gauge*. Urology 1987;29:254-7.
- ⁴⁵ Karacan I, Moore CA. *Objective methods of differentiation between organic and psychogenic impotence*. In: Santen RJ, Swerdloff RS, eds. *Male Reproductive Dysfunction: Diagnosis and Management of Hypogonadism, Infertility, and Impotence*. New York: Marcel Dekker 1986, pp. 548-559.
- ⁴⁶ Karacan I. *Clinical value of nocturnal erection in the prognosis and diagnosis of impotence*. Med Asp Human Sex 1970;4:27-34.
- ⁴⁷ Wasserman MD, Pollak CP, Spielman AJ, Weitzman ED. *Theoretical and technical problems in the measurement of nocturnal penile tumescence for the differential diagnosis of impotence*. Psychosomatic Med 1980;42:575-85.
- ⁴⁸ Marshall P, Morales A, SurrIDGE D. *Unreliability of nocturnal penile tumescence recording and MMPT profiles in assessment of impotence*. Ibid 1981;17:136-9.
- ⁴⁹ Wein AJ, Fishkin R, Carpinello VL, Malloy TR. *Expansion without significant rigidity during nocturnal penile tumescence testing: a potential source of misinterpretation*. J Urol 1981;126:343-4.
- ⁵⁰ Pressman MR, Fry JM, Di Phillip MA, Durante RT. *Avoiding false positive findings in measuring nocturnal penile tumescence*. Urology 1989;34:297-300.
- ⁵¹ Karacan I, Moore C, Sahmay S. *Measurement of pressure necessary for vaginal penetration*. Sleep Res 1985;269.
- ⁵² William E, Bradley MD. *New techniques in evaluation of impotence*. Urology 1987;29:383-8.
- ⁵³ Kaneko S, Bradley WE. *Evaluation of erectile dysfunction with continuous monitoring of penile rigidity*. J Urol 1986;136:1026-9.
- ⁵⁴ Allen RP, Smolev JK, Engel RM, Brendler CB. *Comparison of Rigiscan and formal nocturnal penile tumescence testing in the evaluation of erectile rigidity*. J Urology 1993;149:1265-8.
- ⁵⁵ Carani C, Granata AMR, Bancroft J, Marrana P. *The effects of testosterone replacement on nocturnal penile tumescence and rigidity and erectile response to visual erotic stimuli in hypogonadal men*. Psychoneuroendocrinology 1995;20:743-53.
- ⁵⁶ Udelson D, Park K, Sadeghi-Nejad H, Salimpour P, Krane RJ, Goldstein I. *Axial penile buckling forces vs. Rigiscan radial rigidity as a function of intracavernosal pressure: why Rigiscan does not predict functional erections in individual patients*. Int J Impot Res 2000;12:3-8.
- ⁵⁷ Licht MR, Lewis RW, Wollan PC, Harris CD. *Comparison of Rigiscan and sleep laboratory nocturnal penile tumescence in the diagnosis of organic impotence*. J Urol 1994;154:1740-3.
- ⁵⁸ Meuleman EJ, Diemont WL. *Investigation of erectile dysfunction: diagnostic testing for vascular factors in erectile dysfunction impotence*. Urol Clin North Am 1995;22:803-19.
- ⁵⁹ Bradley MD, Timm WG, Gallagher JM, Johnson BK. *New method for continuous measurement of nocturnal penile tumescence and rigidity*. Urology 1985;21:4-9.
- ⁶⁰ Munoz MM, Bancroft J, Marshall I. *The performance of the Rigiscan in the measurement of penile tumescence and rigidity*. Int J Impot Res 1993;5:69-76.
- ⁶¹ Knoll DL, Abrams JH. *Application of nocturnal electrobioimpedance volumetric assesment: a feasibility study in men without erectile dysfunction*. J Urol 1999;161:1137-40.
- ⁶² Levine LA, Lenting EL. *Use of nocturnal penile tumescence and rigidity in the evaluation of male erectile dysfunction*. Urol Clinic N Am 1995;22:775-88.
- ⁶³ Granata A, Bancroft J, Del Rio G. *Stress and the Erectile Response to Intracavernosal Prostaglandin E₁ in Men With Erectile Dysfunction*. Psychosom Med 1995;57:336-44.
- ⁶⁴ Lue T, Tanagho E. *Physiology of erection and pharmacological management of impotence*. J Urol 1987;137:829-36.
- ⁶⁵ Gutierrez P, Pye S, Bancroft J. *What does Duplex ultrasound add to sexual history, Nocturnal Penile tumescence and intracavernosal injection of smooth muscle relaxant in the diagnosis of erectile dysfunction?* Int J Impot Res 1993;5:123-31.
- ⁶⁶ Kim SC, Oh MM. *Norepinephrine involvement in response to intracorporeal injection of papaverine in psychogenic impotence*. J Urol 1992;147:1530-2.
- ⁶⁷ Kaneko S, Bradley WE. *Evaluation of erectile dysfunction with continuous monitoring of penile rigidity*. J Urol 1986;136:1026-9.
- ⁶⁸ Allen RP, Brendler CB. *Nocturnal penile tumescence predicting response to intracorporeal pharmacological erection testing*. J Urol 1988;140:518-22.
- ⁶⁹ Roose SP, Glassman AH, Walsh BT, Cullen K. *Reversible loss of nocturnal penile tumescence during depression: a preliminary report*. Neuropsychobiology 1982;8:284-8.
- ⁷⁰ Thase ME, Reynolds CF, Glanz LM, Jennings JR, Sewitch DE, Kupfer DJ, et al. *Nocturnal penile tumescence in depressed men*. Am J Psychiatry 1987;144:89-92.

- ⁷¹ Thase ME, Reynolds CF, Jennings JR, Berman SR, Houck PR, Howell JR, et al. *Diagnostic performance of nocturnal penile tumescence studies in healthy dysfunctional (impotent), and depressed men.* Psychiatry Res 1988;26:79-83.
- ⁷² Shiavi RC, Davis DM, Fogel M, White D, Edwards A, Igel G, et al. *Luteinizing hormone and testosterone during nocturnal sleep: relation to nocturnal penile tumescent cycle.* Arch Sex Behav 1977;6:97-104.
- ⁷³ Moore CA, Fishman IJ, Hirshkowitz M. *Evaluation of erectile dysfunction and sleep-related erections.* J Psychosom Res 1997;42:531-9.
- ⁷⁴ Gluckam Gr, Lue TF. *Pelvic steal syndrome.* Urology 1996;47:426.
- ⁷⁵ Fischer C, Gross J, Zuch J. *Cycle of penile erections synchronous with dreaming (REM) sleep: preliminary report.* Arch Gen Psych 1965;12:29-45.

Domanda 1: Nell'ambito della DE il primo obiettivo diagnostico è

- a) Distinguere tra DE su base organica e DE su base psicogena
- b) Valutare la specifica causa organica della DE
- c) Comunque secondario rispetto all'individuazione di una terapia efficace

Domanda 2: Le erezioni correlate al sonno si verificano

- a) Durante quasi tutte le fasi REM
- b) In tutte le fasi del sonno
- c) Nella minoranza delle fasi REM

Domanda 3: L'intervista sessuologia nel soggetto affetto da DE

- a) È attualmente di scarsa importanza
- b) Ha un ruolo diagnostico fondamentale
- c) Deve essere sempre associata a questionari sessuologici

Domanda 4: Lo stamp test

- a) Sostituisce validamente ogni altra indagine strumentale delle erezioni correlate al sonno
- b) È un esame poco costoso ma scarsamente attendibile
- c) È attendibile solo se associato alla valutazione della testosteronemia

Domanda 5: A riguardo degli *snap gauge*

- a) Sono alimentati a pile
- b) Le loro bande elastiche si rompono solo con una rigidità del pene superiore all'80%
- c) Non sono collegati ad alcun trasduttore

Domanda 6: Nello studio delle erezioni correlate al sonno

- a) Il parametro più importante è l'incremento di tumescenza
- b) Il parametro più importante è la rigidità
- c) Il parametro più importante è il rapporto tra tumescenza e rigidità

Domanda 7: Nello studio delle erezioni correlate al sonno

- a) È possibile monitorare in modo continuo la rigidità assiale
- b) È possibile monitorare in modo continuo la rigidità radiale
- c) È possibile monitorare in modo continuo sia la rigidità assiale che quella radiale

Domanda 8: Durante le erezioni correlate al sonno nel pene si verifica

- a) Un minimo aumento dell'ossigenazione all'interno dei corpi cavernosi
- b) Un importante aumento dell'ossigenazione all'interno dei corpi cavernosi
- c) Una dilatazione delle venule sub-tunicali

Domanda 9: Il monitoraggio della rigidità e della tumescenza peniene durante il sonno

- a) Permette una sicura diagnosi differenziale tra DE su base organica e DE su base psicogena
- b) È un esame che non viene più eseguito data la sua scarsa attendibilità
- c) È un esame importante per la DE, ma va valutato anche sulla base di informazioni anamnestiche e cliniche e sulla base di altre eventuali indagini strumentali

Domanda 10: Questo è il grafico dello NPTRM di un paziente che lamenta DE. Sono necessarie altre informazioni per una sicura diagnosi di DE su base organica o su base psicogena; tuttavia, sulla base del grafico è possibile ipotizzare che il paziente sia affetto da DE su base

- a) Psicogena perché le erezioni sono numerose e perché la massima rigidità supera il 60% in alcune erezioni
- b) Vascolare perché la massima rigidità supera il 60% per tempi brevi e l'incremento di tumescenza è modesto
- c) Neurogena perché le erezioni sono di breve durata

La microlitiasi del testicolo: la nostra esperienza alla luce delle attuali conoscenze

Testicular microlithiasis: our experience according to most recent findings

G. PASSAVANTI, V. PIZZUTI, E. SPINOSA, A. BRAGAGLIA, R. PAOLINI

UO Urologia-Andrologia Ospedale "Misericordia", Grosseto

Parole chiave: Microlitiasi testicolare, Ecografia, Rachitismo

Key words: *Testicular microlithiasis, Echography, Rachitis*

Riassunto

La micro-litiasi testicolare (MIT) è una infrequente condizione ancora poco conosciuta. Noi abbiamo studiato quattro pazienti che sono stati sottoposti ad ecografia del testicolo: in tre casi i pazienti erano stati studiati per una turba della fertilità rilevata con lo spermogramma ed in un caso per una sindrome compatibile con prostatite acuta ed emospermia. Tre pazienti presentavano una MIT ad alta densità (> 5 calcificazioni per scansione ecografica) ed uno a bassa (< 5 calcificazioni). Nessun paziente presentava sia all'ecografia che alla palpazione noduli testicolari sospetti per neoplasia. Due pazienti presentavano esame obiettivo ed anamnesi sostanzialmente negativi, un paziente riferiva una orchiepididimite acuta nella storia passata ed un paziente era stato trattato con Calcio e Vit. D in età pediatrica per una forma di rachitismo. I markers oncologici (CEA; aFP; βhCG) erano negativi. Durante il follow-up (6-18 mesi), effettuato con palpazione ed ecografia, non abbiamo rilevato la comparsa di lesioni testicolari nodulari.

La diagnosi di MIT è semplice grazie all'ecografia che permette anche di farne una classificazione in base alla densità delle microcalcificazioni. La diagnosi ecografica differenziale è agevole e si pone con le lesioni ipercogene del testicolo; l'etiopatogenesi è sconosciuta. Sul piano strutturale le microcalcificazioni sono costituite da idrossiapatite e si sviluppano sulle cellule germinali degenerate. La malattia può interessare fino al 75% dei tubuli seminiferi. Essa è spesso associata ad ipofertilità ed è rinvenuta nei testicoli interessati da un tumore. In entrambi i casi non è chiaro se la MIT sia lesione responsabile o semplicemente associata alle due condizioni. Pertanto tutti gli Autori concordano sull'opportunità di effettuare dei controlli periodici (6-12 mesi) con palpazione ed ecografia.

Summary

Testicular microlithiasis (TMI) is a rare and little known condition. We verified its clinical and pathogenetic characteristics according to our experience. We performed testicular echography on four patients. Three of them had subfertility and presented oligoasthenospermia in the spermogram, while one patient had prostatitis with emospermia. Three patients had a high density TMI and one had a low density TMI. None of them showed neoplastic testicular lesions in the first echography.

Anamnesis and examination revealed no outstanding data, one had been treated with calcium and Vit.D when a child for rachitis and another reported acute orchyepididymitis in his past history.

Oncological markers were negative.

6-18 months follow-up with examination and echography didn't show any testicular nodules.

TMI is easy to diagnose and classify thanks to echography.

Aetiology, pathogenesis of TMI and its connection to testicular cancer are not yet known.

The structure of the calcifications is constituted by hydroxyapatite which develop on degenerated spermatogones. They measure 1-3 mm in diameter and can be found on 30-75% of the seminifer tubules.

TMI is typical of patients with subfertility although the connection between this condition and male sterility is not clear. Similarly, TMI can be found in testicles' tumours although even in this case, the connection between these conditions is not clear.

That is why all authors agree in suggesting an echographical check every 6-12 months.

Introduzione

La Microlitiasi testicolare (MIT) è una infrequente condizione che ancora oggi presenta numerosi aspetti poco conosciuti e la cui diagnosi è diventata agevole grazie all'introduzione dell'ecografia^{1,2}, infatti in epoca pre-ecografica,

questa condizione veniva rilevata solo su organi prelevati in corso di orchietomia o di autopsia. L'ecografia inoltre permette di distinguere una MIT isolata ed una multipla (quest'ultima a bassa e ad alta densità)^{1,2}. La forma isolata è in generale considerata di modesto rilievo clinico in quanto esito di pregressi eventi flogistici e traumatici, mentre quella multipla, ad etiologia sostanzialmente sconosciuta, è correlata sia con le turbe della qualità del seme sia con le neoplasie testicolari³. Su tali basi risulta quindi opportuno definire un comportamento uniforme da tenere nei confronti della MIT, infatti se la forma isolata non necessita di particolari approfondimenti, quella multipla, soprattutto se ad alta densità, richiederà alcuni accorgimenti diagnostici.

Se il paziente lamenta una turba della fertilità sarà necessario approfondire comunque, tutti gli aspetti anatomici, endocrinologici e flogistici correlabili con le alterazioni della qualità dei nemaspermi, e si dovrà quindi tentare nei limiti del possibile di migliorare al massimo la qualità del liquido seminale del paziente; collateralmente sarà necessario escludere la presenza di noduli testicolari palpabili od ecograficamente rilevabili ed effettuare il dosaggio dei markers oncologici specifici (α -fetoproteine e β hCG); infatti le neoplasie testicolari spesso si associano a microcalcificazioni. Bisognerà, in altri termini, chiarire se la MIT in esame sia idiopatica o se sia un elemento morfologico di accompagnamento di una neoplasia⁴.

In caso di MIT idiopatica (o comunque non associata a neoplasia), sebbene non sia nota la relazione tra MIT e neoplasie testicolari, c'è comunque unanime parere nel consigliare l'esecuzione di una valutazione clinica ed una ecografia ogni 6-12 mesi, a carattere precauzionale, onde identificare il più precocemente possibile la comparsa di eventuali nodulazioni neoplastiche⁵.

Risulta inoltre opportuno precisare che la relazione tra MIT e neoplasia, come verrà meglio esposto in seguito, è ancora oggetto di studio e non è chiaro se la microlitiasi sia precursore morfologico del tumore o se, come sembra più probabile, gli stessi processi degenerativi possono essere responsabili di entrambe le condizioni morbose⁶.

Noi abbiamo cercato di verificare nella nostra esperienza gli aspetti clinici di questa condizione morfopatologica del testicolo.

Materiali, metodi e risultati

Quattro pazienti, sottoposti ad ecografia testicolare presso il nostro ambulatorio, hanno presentato una

microlitiasi. Tre pazienti di 25, 27 e 33 anni, presentavano una turba della fertilità con una oligoasteospermia allo spermogramma. I primi due presentavano una MIT ad alta densità e non presentavano, né alla valutazione clinica né all'anamnesi, informazioni che potessero dare indicazioni patogenetiche della microlitiasi; il terzo paziente presentava una MIT a bassa densità e nell'anamnesi si rilevava una orchiepididimite manifestata alcuni anni prima, che non sembrava avere lasciato conseguenze clinicamente rilevabili. Il quarto paziente di 22 anni, lamentava una emospermia con una sintomatologia compatibile con una prostatite acuta; il paziente riferiva di essere stato trattato in età pediatrica con calcio e vitamina D per un rachitismo. Nessuno dei quattro pazienti riferiva interventi per criptorchidismo.

L'ecografia non ha documentato in nessun caso aree testicolari ecograficamente alterate e compatibili con una neoplasia testicolare.

I markers oncologici testicolari (CEA, α -fetoproteina, β hCG) erano negativi in tutti e quattro i casi.

Il follow-up effettuato con palpazione ed ecografia testicolare a cadenza semestrale, di diciotto mesi in tre casi e di sei in uno, non ha mai documentato lesioni testicolari significative.

Discussione

La MIT è una rara condizione la cui diagnosi è ecografica e che si caratterizza per millimetriche immagini iperecogene distribuite nel parenchima testicolare. In base al numero delle calcificazioni si può operare la seguente classificazione:

- calcificazioni isolate¹;
- microlitiasi a bassa densità (meno di 5 calcificazioni per scansione ecografica)²;
- microlitiasi ad alta densità (più di 5 calcificazioni per scansione ecografica)².

Trascurando la forma isolata, la cui patogenesi è spesso riconducibile ad una origine flogistica, vascolare o post-traumatica¹, ed interessandoci esclusivamente di quella multipla, si può senz'altro affermare che la diagnosi ecografica è estremamente agevole⁷ e l'etiopatogenesi è sconosciuta¹.

Da un punto di vista strutturale le microcalcificazioni sono costituite da idrossiapatite⁸ e prendono origine dalle cellule del tubulo seminifero, in particolare dagli spermatogoni, che vanno incontro a processi degenerativi e che costituiscono la matrice della calcificazione⁹. Le microcalcificazioni hanno diametro di 1-3 mm ed ostruiscono il lume tubulare⁸⁻¹⁰; il nu-

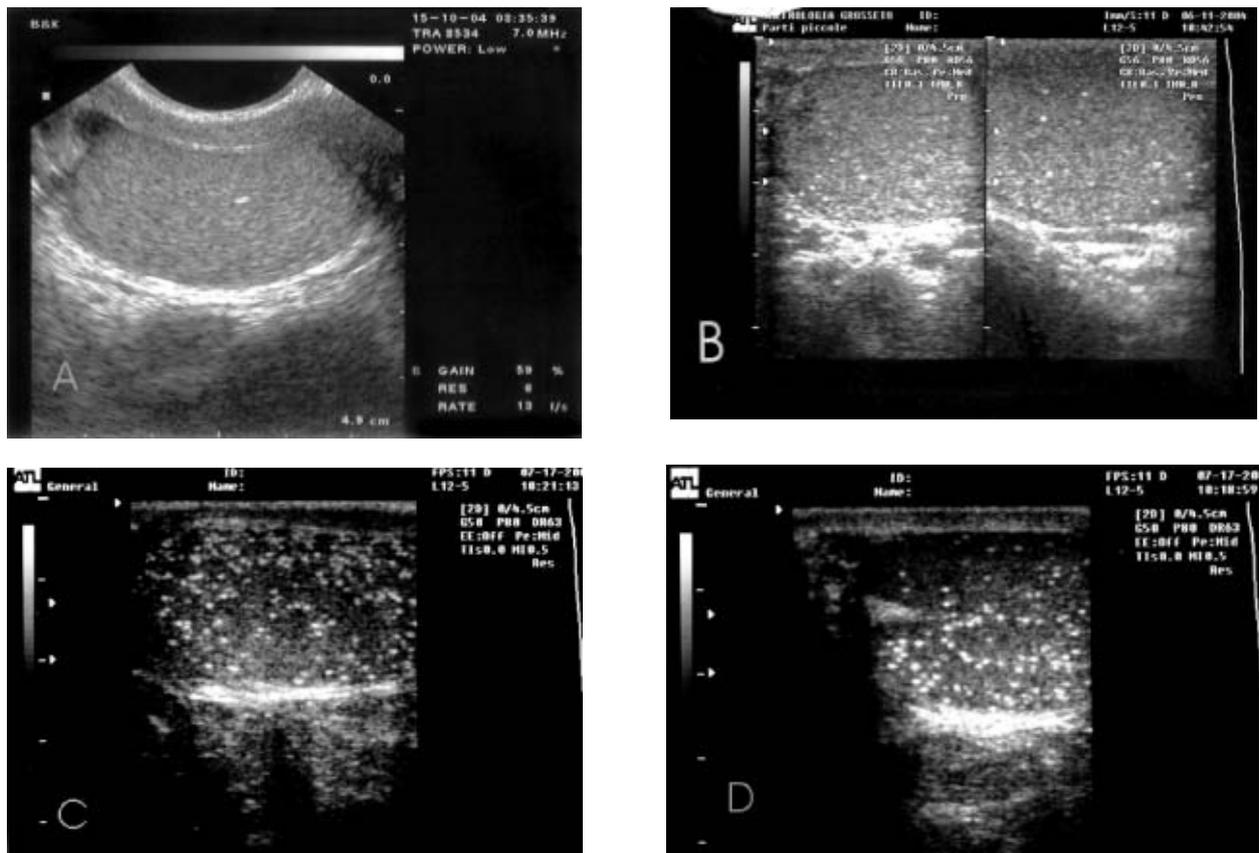


Fig. 1. Esempi di immagini ecografiche di MIT isolata (A), a bassa densità (B) e ad alta densità (C) e infine si evidenzia come l'ilo testicolare sia ben distinguibile da una microcalcificazione (D). *Ecographic images of single (A)/low-density (B)/high-density (C) T.M. Difference between testicular hilum and T.M. is clearly distinguishable.*

mero di tubuli interessati oscilla tra il 30 ed il 75%². La MIT ha una incidenza che si aggira intorno all'1%^{2 11 12}; nei soggetti con turbe della fertilità l'incidenza è significativamente elevata³ e soprattutto negli operati di criptorchidismo ha una incidenza del 10-20%^{13 14}. Il numero delle calcificazioni sarebbe correlato con la qualità dello sperma ed infatti è stato rilevato che la motilità dei nemaspermidi dei soggetti con basso numero di calcificazioni è migliore di quella degli spermatozoi dei pazienti con MIT ad alta densità¹⁵. In base a quest'ultima riflessione si potrebbe ipotizzare che l'ostruzione tubulare determinata dalla MIT sia causa della subfertilità, ma in realtà vi sono rilievi che non confermerebbero il dato epidemiologico suddetto¹⁶ e quindi non è ancora chiaro se effettivamente la MIT sia causa di subfertilità o se le condizioni che causano la subfertilità, siano causa della MIT¹⁵.

La MIT multipla viene correlata con le neoplasie testicolari ed in effetti si ritrova nei testicoli sede di un tumore nel 30-40% dei casi⁴ e per contro nei pazienti

portatori di MIT si rileva una neoplasia testicolare nel 15%, o meno, dei casi^{12 17}. A questi dati di base bisogna aggiungere che è stata vista una relazione tra il numero delle calcificazioni e l'incidenza di tumori testicolare e cioè che nei casi di tumore testicolare associato a MIT per lo più quest'ultima era ad alta densità¹⁸. È stato inoltre visto che nel testicolo controlaterale a quello asportato per tumore, la MIT si associa spesso a CIS¹⁹; non è stata peraltro rilevata una relazione tra MIT ed i diversi istotipi di neoplasia testicolare²⁰. A rendere ancora più controversa la questione si pone il rilievo che nei pazienti portatori di MIT sottoposti a controlli periodici, anche per tempi lunghi, non è stata rilevata una comparsa significativa di tumori testicolari^{5 20}. Un ultimo rilievo è la correlazione tra incidenza di neoplasia e sintomatologia scrotale (dolenzia, ipersensibilità, senso di peso), e tale condizione si associa molto più frequentemente alla presenza di tumore testicolare rispetto alla MIT multipla²¹.

Alla luce di tutti questi dati abbastanza controversi, si possono comunque dedurre alcune riflessioni, peraltro

in linea con altri dati riportati in letteratura: la MIT multipla potrebbe non essere considerata come una lesione precancerosa, ma si può ipotizzare che le stesse condizioni degenerative che preludono al tumore del testicolo, siano alla base della MIT multipla⁶, ed inoltre che il follow-up dei pazienti portatori di MIT multipla, debba essere effettuato solo con valutazione clinica ed ecografia, mentre sono inutili esami più complessi e costosi od invasivi, come TC e biopsia⁵.

Nella nostra casistica nessun paziente presentava noduli neoplastici al momento della diagnosi e, con un sia pur breve follow-up, non sono comparse lesioni testicolari significative.

Due pazienti presentavano una forma chiaramente idiopatica, in un caso si poteva ipotizzare una relazione con l'orchiepididimite pregressa, ed in un caso si trattava di un paziente trattato in età pediatrica con Calcio e prodotti vitaminici per il rachitismo; in questo caso non si può escludere che la microlitiasi possa essere stata favorita da tale terapia¹¹.

Bibliografia

- ¹ Bushby LH, Miller FN, Rosairo S, Clarke JL, Sidhu PS. *Scrotal calcification: ultrasound appearances, distribution and aetiology*. Br J Radiol 2002;75:283-8.
- ² Silvani M, Bossola PC, Pagani G, Minocci D. *Testicular microlithiasis: an unusual ultrasound imaging*. Arch It Urol Androl 2002;74:238-40.
- ³ Aizenstein RI, DiDomenico D, Wilbur AC, O'Neil HK. *Testicular microlithiasis: association with male infertility*. J Clin Ultrasound 1998;26:195-8.
- ⁴ Otite U, Webb JA, Oliver RTD, Badenoch DF, Nargund VH. *Testicular microlithiasis: is it a benign condition with malignant potential?* Eur Urol 2001;40:538-42.
- ⁵ Pourbagher MA, Kilinc F, Guvel S, Pourbagher A, Egilmez T, Ozkardes H. *Follow-up of testicular microlithiasis for subsequent testicular cancer development*. Urol Int 2005;74:108-12.
- ⁶ Kim B, Winter TC, Ryu JA. *Testicular microlithiasis: clinical significance and review of the literature*. Eur Radiol 2003;13:2567-76.
- ⁷ Sarteschi LM, Palego P. *Eco-color-doppler del contenuto della borsa scrotale*. p. 29-41; *Lesioni espansive scrotali*. pag. 230-240. In: *Ecografia andrologica*. Modena: Ed. Athena 2003.
- ⁸ De Jong BW, de Gouveia Brazao CA, Stoop H, Wolffenbuttel KP, Oosterhuis JW, Kok DJ. *Raman spectroscopic analysis identifies testicular microlithiasis as intratubular hydroxyapatite*. J Urol 2004;171:92-6.
- ⁹ Renshaw AA. *Testicular calcifications: incidence, histology and proposed pathological criteria for testicular microlithiasis*. J Urol 1998;160:1625-8.
- ¹⁰ Guiraud P, Staerman F, Coeurdacier P, Cipolla B, Guille F, Lobel B. *Testicular microlithiasis: ultrasonographic diagnosis*

Conclusioni

L'esiguità della casistica non consente deduzioni significative, d'altronde si tratta di una condizione morbosa piuttosto rara. Si può comunque rilevare che tre pazienti presentavano turbe della fertilità ed inoltre che non è stata mai identificata una neoplasia testicolare né al momento della diagnosi, né durante il follow-up. Da notare, infine, l'ipotesi patogenetica relativa al quarto caso, in cui le microcalcificazioni potrebbero essere considerate come localizzazioni ectopiche, secondarie ad una terapia specifica per il rachitismo. Questa congettura, seppure del tutto teorica e difficilmente dimostrabile, potrebbe comunque aprire la via ad ulteriori e più approfonditi studi su questo aspetto e sugli effetti di tali terapie.

and semiologic value. Pr Urol 1995;5:717-9.

- ¹¹ Rey D, Sibert L, Rozet F, Dunet F, Staerman F, Grise P. *Micro-lithiases testiculaires et cancer du testicule*. Pr Urol 2002;12:500-3.
- ¹² Skyrme RJ, Fenn NJ, Jones AR, Bowsher WG. *Testicular microlithiasis in a UK population: its incidence, associations and follow-up*. BJU Int 2000;86:482-5.
- ¹³ de Gouveia Brazao CA, Pierik FH, Oosterhuis JW, Dohle GR, Looijenga LH, Weber RF. *Bilateral testicular microlithiasis predicts the presence of the precursor of testicular germ cell tumors in subfertile men*. J Urol 2004;171:158-60.
- ¹⁴ Nicolas F, Dubois R, Laboure S, Dodat H, Canterino I, Rouviere O. *Micro-lithiases testiculaires et cryptorchidie: analyse échographique à distance de l'orchidopexie*. Pr Urol 2001;11:357-61.
- ¹⁵ Thomas K, Wood SJ, Thompson AJ, Pilling D, Lewis-Jones DI. *The incidence and significance of testicular microlithiasis in a subfertile population*. Br J Radiol 2000;73:494-7.
- ¹⁶ Von Eckardstein S, Tsakmakidis G, Kamischke A, Rolf C, Nieschlag E. *Sonographic testicular microlithiasis as an indicator of premalignant conditions in normal and infertile men*. J Androl 2001;22:818-24.
- ¹⁷ Middleton WD, Teefey SA, Santillian CS. *Testicular microlithiasis: prospective analysis of prevalence and associated tumor*. Radiology 2002;224:425-8.
- ¹⁸ Bennet HF, Middleton WD, Bullock AD, Teefey SA. *Testicular microlithiasis: US Follow-up*. Radiology 2001;218:359-63.
- ¹⁹ Holm M, Hoei-Hansen CE, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE. *Increased risk of carcinoma in situ in patients with testicular germ cell cancer with ultrasonic microlithiasis in the contralateral testicle*. J Urol 2003;170:1163-7.
- ²⁰ Derogee M, Bevers RF, Prins HJ, Jonges TG, Elbers FH,

Boon TA. *Testicular microlithiasis, a premalignant condition: prevalence, histopathologic findings, and relation to testicular tumor*. Urology 2001;57:1133-7.

²¹ Ringdahl E, Claybrook K, Teague JL, Northrup M. *Testicular microlithiasis and its relation to testicular cancer on ultrasound findings of symptomatic men*. J Urol 2004;172:1904-6.

Domanda 1: La MIT viene diagnosticata con:

- a. Ecografia
- b. Ecocolor Doppler
- c. Biopsia
- d. Esame obiettivo

Domanda 2: La MIT si associa frequentemente a:

- a. Ipofertilità
- b. Epididimiti acute
- c. DE
- d. Algie testicolari

Domanda 3: Il follow-up della MIT prevede:

- a. Esame obiettivo ed ecografia
- b. TAC
- c. Biopsia
- d. Spermioграмма

Anatomia del lavoro scientifico peer reviewed

Anatomy of a peer reviewed research paper

G. CAVALLOTTI

Specialista in Neurologia, Medical writer, UO Neurologia Azienda Ospedaliera "S. Anna", Como

Parole chiave: Articolo scientifico, Autori, Linee guida, Pubblicazione, Rassegne

Key words: *Scientific paper, Authors, Guidelines, Publication, Review*

Riassunto

Scrivere e pubblicare una pubblicazione scientifica è solo uno degli obiettivi che il ricercatore deve conseguire prima di poter considerare concluso il proprio progetto di ricerca. La stesura del manoscritto richiede uno sforzo notevole nel definirne la struttura, alla luce di alcune linee guida tecniche. È peraltro importante considerare che il successo editoriale di un manoscritto è legato non solo a capacità ed esperienza dell'autore, ma anche e soprattutto all'attenzione dedicata preliminarmente a disegno e conduzione del progetto di ricerca da cui derivano i dati.

Lo scopo di questo articolo è fornire al ricercatore alcuni semplici suggerimenti su come scrivere una pubblicazione scientifica, tenendo sempre presente che l'obiettivo di un articolo scientifico dovrebbe essere l'analisi sistematica di un argomento specifico, e l'esposizione dei risultati in maniera strutturata.

Summary

Writing a paper and getting it published is only one of the tasks a researcher has to face before being able to regard a research project as fully accomplished. While writing a manuscript, it is important to put a consistent effort in designing its structure, paying attention to a few technical guidelines. It is worth keeping in mind, however, that the editorial success of a manuscript is related not only to the writer's skills and experience but also to the attention previously dedicated to the design and to the running of the research project from which data are derived. The objective of this article is to provide the researcher with a few simple suggestions on how to write a scientific article, bearing in mind that the aim of a scientific paper should be the systematic analysis of a specific issue and the exposition of the results in a structured way.

Considerazioni generali

La stesura di un manoscritto scientifico e la sua pubblicazione sono i passi conclusivi di qualsiasi progetto di ricerca.

Se la pubblicazione avrà successo la ricerca avrà riconoscimenti e aumenterà, così, la probabilità di ottenere ulteriori finanziamenti che consentiranno di proseguire un certo filone di indagini.

Da qui l'importanza di curare la preparazione e la stesura di un manoscritto scientifico, prestando la dovuta attenzione anche ad alcune norme di carattere metodologico.

Il successo editoriale di un manoscritto risiede non solo nelle qualità personali e nell'esperienza professionale dell'Autore che lo redige, ma anche nelle attenzioni

dedicate al disegno sperimentale prima e alla realizzazione poi del progetto di ricerca. Anche il più abile scrittore non è in grado di riparare, all'atto della stesura di un manoscritto di carattere scientifico, a difetti quali l'assenza di un protocollo strutturato, una scarsa originalità dell'ipotesi di lavoro, errori nel disegno e nell'architettura dello studio, errori nella selezione e nella definizione della numerosità della casistica, insufficiente standardizzazione dei metodi, errori nella pianificazione e nella conduzione dell'analisi statistica¹. Scopo di un lavoro scientifico è l'analisi sistematica di un argomento specifico e la presentazione dei risultati in modo strutturato.

Le dichiarazioni devono essere confrontabili e verificabili.

Il risultato di un lavoro scientifico si rivela utile quando:

- su uno specifico argomento vengono date informazioni che fino a quel momento non erano state pubblicate;
- i risultati già noti vengono presentati da un nuovo punto di vista.

Requisiti generali di un lavoro scientifico sono:

- *obiettività*: il contenuto della ricerca deve essere sempre verificabile da parte di chiunque. Tutti, cioè, partendo dalle stesse premesse e seguendo le stesse procedure, devono poter essere in grado di ottenere gli stessi risultati;
- *affidabilità*: devono sempre essere espressi in modo chiaro il valore e l'importanza delle affermazioni contenute nel testo e la loro fonte. Va sempre specificato quando vengono riportati fatti affidabili e quando opinioni o supposizioni non verificabili;
- *validità*: nel testo deve essere trattato ciò che è indicato nel titolo.

Fasi della ricerca

- Scopo e obiettivi
- Metodi di lavoro
- Esiti
- Confronto con altre ricerche e risposte al quesito sperimentale

Struttura e contenuto

- Introduzione
- Materiali e metodi
- Risultati ottenuti
- Discussione e conclusioni

Titolo

In letteratura si incontrano lavori con un titolo esplicativo, che esprime, cioè, in modo sintetico e chiaro l'argomento trattato nel lavoro, e lavori con titolo non esplicativo.

Esempio di lavoro importante con titolo generico: "Goldstein I, Lue T, Padma-Nathan H, Rosen R, Steers W, Wicker P, for the Sildenafil Study Group: *Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction*. N Engl J Med 1998;338:1397-1404".

La scelta del titolo riveste una grande importanza per molte ragioni. Anticipando conclusioni innovative o enunciando ipotesi di interpretazione dei risultati più accattivanti può catturare l'attenzione del lettore e invogliarlo alla lettura.

Il titolo e l'abstract devono presentare fedelmente il contenuto della ricerca e consentirne la reperibilità nell'ambito dei database bibliografici. Non possono

che costituire, quindi, il momento finale della stesura di un lavoro scientifico.

Guida alla stesura del titolo. *Guideline for writing the title.*

- Deve essere coerente rispetto al contenuto del testo, indicando con precisione l'argomento dello studio (il lettore potrebbe rimanere deluso non trovando nel testo un particolare aspetto del tema suggerito dal titolo)
- Non deve essere generico
- Deve attirare l'attenzione del lettore
- Deve essere sintetico, informativo, preciso
- Deve contenere le parole chiave che sintetizzano i contenuti del lavoro

Autori

Anche se potrebbe sembrare evidente chi sono gli Autori di un articolo, tuttavia, questo argomento ha suscitato numerose preoccupazioni negli ultimi tempi ²⁻¹⁰.

Nel 1997 l'*International Committee of Medical Editors* ha pubblicato linee-guida per gli Autori ¹¹ che sono state recentemente aggiornate.

Secondo l'*International Committee of Medical Journal Editors* e il *Committee on Publication Ethics* ¹²⁻¹⁴ dovrebbe figurare fra gli Autori chiunque abbia fornito un sostanziale contributo alla formulazione dell'ipotesi e al disegno dello studio, alla raccolta e all'analisi dei dati, alla stesura e alla revisione dell'articolo stesso fino alla sua versione finale. Come primo Autore dovrebbe figurare chi ha svolto la parte più consistente del lavoro e si è occupato della stesura del manoscritto; poi saranno indicati in ordine di contributo tutti gli altri Autori, mentre per ultimo dovrebbe essere indicato il supervisore del gruppo, destinatario in genere della corrispondenza successiva alla pubblicazione.

In molti casi, tuttavia, per ultimo viene citato il ricercatore senior, cioè colui che ha maggior esperienza nel gruppo.

Abstract

Sulla base della lettura dell'abstract è possibile selezionare gli articoli che meritano una lettura integrale e avere una rapida panoramica su un argomento per decidere in merito ad eventuali approfondimenti.

Molte riviste si orientano verso una forma di abstract strutturato in obiettivi, metodi, risultati e conclusioni. La lunghezza dell'abstract varia da rivista a rivista da

un minimo di 100 a un massimo di 300 parole. MEDLINE tronca gli abstract a 250 parole: questa sembra quindi essere la lunghezza preferibile.

L'abstract è una delle parti più consultate di un articolo; spesso, anzi, è l'unica sezione ad essere letta.

Guida alla stesura dell'abstract. *Guideline for writing an abstract.*

- Sintetizzare fedelmente il contenuto dell'articolo
- Fornire alcuni dati numerici: non tutti
- Brevità
- Preferibile utilizzare sempre la forma attiva e non esprimersi in prima persona

Parole chiave

Le parole chiave non possono essere scelte a caso dall'Autore, ma devono essere termini contenuti nella *National Library of Medicine's list of Medical Subject Headings* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>).

Corresponding Author

La pagina del titolo deve contenere il nome per esteso e l'affiliazione di ciascun Autore e specificare l'Autore al quale va indirizzata la corrispondenza, che oltre a essere il primo contatto dell'editore è anche la persona al quale saranno indirizzate tutte le domande sulla ricerca.

Supporto economico e fornitura di attrezzature

La prima pagina del lavoro deve contenere anche informazioni relative alle organizzazioni, aziende o agenzie che hanno finanziato il lavoro o hanno fornito attrezzature o servizi o messo a disposizione del personale. Se la ricerca è stata supportata da un *grant* la prima pagina dovrà recare il numero dello stesso.

Conflitti di interesse

Deve essere evidenziato sempre nella prima pagina. Il conflitto di interesse più comune è la presenza di un Autore che ha un interesse economico nell'azienda che produce uno dei farmaci testati nella ricerca.

Introduzione

Nell'introduzione viene precisato il tema, lo stato attuale della ricerca scientifica sull'argomento che si intende trattare, il metodo e la struttura del lavoro, lasciando aperte le conclusioni. In questa parte viene espresso il razionale del lavoro, che descrive in modo sintetico l'evidenza disponibile sull'argomento nel momento in cui lo studio è stato progettato. L'esigenza di affrontare nuovamente un certo tema, che motiva lo studio, dovrebbe scaturire dall'analisi delle opinioni e dei contrasti esistenti su una certa questione; alla presentazione della motivazione seguirà una chiara descrizione dell'ipotesi di studio e di come lo studio intende risolvere le problematiche ancora aperte^{2 15 16}.

L'introduzione in genere contiene, nel seguente ordine:

- un'esposizione dettagliata ed esaustiva dei risultati più recenti conseguiti da altri ricercatori che si occupano dell'argomento al quale gli Autori intendono aggiungere un contributo;
- un'esposizione sintetica ma dettagliata del contributo originale fornito dal lavoro.

Il contenuto dell'introduzione, inoltre, dovrebbe collegarsi al contenuto della discussione, la quale nella sua stesura dovrebbe fare riferimento allo schema logico dell'introduzione. Nella discussione vengono presentati e interpretati i risultati ottenuti nel contesto della letteratura internazionale.

L'introduzione classica dovrebbe articolarsi in 2-3 paragrafi.

Il primo paragrafo dovrebbe fornire le informazioni di base e indicare le referenze principali. È sufficiente menzionare i lavori più significativi ed esporre con chiarezza l'argomento della ricerca e il quesito sperimentale.

Il secondo paragrafo definirà l'importanza del problema elencando le questioni non risolte (il quesito al quale si vuole dare una risposta). Il paragrafo finale esporrà il razionale della ricerca, il *quesito sperimentale* e l'*ipotesi* di lavoro.

Un errore comune è tralasciare di indicare l'ipotesi di lavoro.

L'ipotesi di lavoro deve essere sempre presente mentre si scrive il lavoro e per questo è utile porsi le seguenti 3 domande:

1. il metodo selezionato risponde al quesito sperimentale?
2. i risultati confermano o sconfessano l'ipotesi?
3. le conclusioni (basate sull'ipotesi di lavoro) supportano i risultati?

Guida alla stesura della sezione Introduzione. *Guidelines for writing the Section Introduction.*

1. Qual è il problema o il quesito sperimentale? (menzionare 3-5 tra le referenze più importanti)
2. Qual è l'importanza del problema o del quesito sperimentale? (includere referenze recenti per dimostrare che il quesito è attuale)
3. Esporre chiaramente il quesito sperimentale e l'ipotesi di lavoro

Materiali e metodi

La sezione dei metodi descrive in dettaglio le modalità e il tracciato seguiti nello svolgimento dello studio. Idealmente, la lettura di questo capitolo, deve mettere qualunque ricercatore lo desiderasse in condizione di compiere lo stesso percorso, riproducendo gli stessi risultati ai quali si è giunti al termine dello studio.

I metodi scelti per la conduzione del lavoro devono essere coerenti con il quesito sperimentale che ci si è posti.

È una prassi comune strutturare la sezione dei metodi in sottotitoli che ne rendano più agile la lettura e ne facilitino la comprensione. Naturalmente la scelta dei sottotitoli sarà influenzata dal tipo di ricerca condotto.

Uno studio sull'uomo avrà ad esempio come sottotitolo: "Soggetti".

I sottotitoli più comuni sono: Soggetti, Metodica/Intervento e procedure dello studio, Disegno dello studio, Obiettivi di studio (endpoint)/misure di outcome (risultati attesi), Analisi dei dati.

SOGGETTI

- Descrivere i soggetti in studio: ad esempio volontari sani, pazienti o se si tratta di uno studio sperimentale, animali. Se lo studio include un gruppo di controllo sarà necessario descrivere anche le caratteristiche del gruppo di controllo;
- descrivere la procedura seguita per reclutare e selezionare i soggetti in studio;
- descrivere i criteri di inclusione e di esclusione.

È talvolta utile inserire le caratteristiche demografiche principali dei soggetti in una Tabella: età, sesso, gruppo di trattamento, diagnosi (definizione della condizione o della patologia in studio) per i gruppi di pazienti.

Se lo studio coinvolge soggetti è necessario includere una frase che attesti l'approvazione del Comitato Etico e specificare come è stato ottenuto il consenso informato del paziente o di un suo rappresentante le-

gale, caregiver, o del/i genitore/i in caso di minori. L'approvazione del Comitato Etico è obbligatoriamente richiesta dalle riviste che adottano un sistema di peer review. In caso non fosse disponibile tale approvazione l'articolo non sarà accettato per la pubblicazione.

Soggetti inclusi nello studio. *Subjects included in the trial.*

1. Approvazione necessaria, da parte del comitato etico e autorità regolatorie, perché il lavoro venga accettato su riviste peer reviewed
2. Consenso informato
3. Ambientazione dello studio (ad esempio pazienti ambulatoriali in confronto a pazienti ricoverati in ospedale)
4. Criteri di inclusione e criteri di esclusione che descrivono la popolazione studiata
5. Procedure di selezione (ad esempio randomizzazione)

METODICA/INTERVENTO E PROCEDURE DELLO STUDIO

È necessario tener presente che tutte le informazioni descritte nella sezione dei metodi devono consentire ad altri ricercatori di riprodurre i risultati ottenuti nello studio.

Va dunque descritta la metodica utilizzata nello studio, la sua calibratura e, se necessario, la validazione della metodica stessa (indicare una referenza per metodi validati, una breve descrizione e una referenza per metodi di uso non routinario pubblicati in precedenza, una descrizione per metodi nuovi). Occorre citare il nome del produttore delle apparecchiature impiegate e il suo indirizzo.

Va identificato con esattezza il tipo di intervento; ad esempio nel caso di un trattamento farmacologico, il tipo di farmaco utilizzato, indicando il principio attivo (non il nome commerciale), il dosaggio prescelto e la posologia di somministrazione. Questa sezione, oltre agli interventi terapeutici, include le procedure eseguite e le modalità con cui i dati sono stati raccolti. In base al tipo di studio la sezione può contenere la descrizione del disegno dello studio e i tempi in cui sono state eseguite le procedure e le valutazioni in studio. La descrizione deve essere dettagliata e può contenere, se necessario, un diagramma del disegno dello studio che evidenzi i tempi delle valutazioni previste dal protocollo di studio.

Classificazione dei disegni sperimentali degli studi di intervento. *Classification of study design of investigational trial.*

- Presenza o meno di un trattamento di confronto (studi controllati o non controllati)
- Assegnazione casuale o meno di un trattamento (randomizzazione)
- La conoscenza o non conoscenza da parte dei pazienti/volontari sani e degli sperimentatori del trattamento somministrato (studi in doppio cieco, in cieco semplice, in aperto)
- L'assegnazione di ciascuno dei trattamenti di confronto a pazienti diversi (studio fra soggetti) o di più trattamenti a tutti i pazienti (entro soggetti).

DISEGNO DELLO STUDIO

Studio controllato o non controllato

La presenza o l'assenza di un trattamento di controllo è un criterio importante per giudicare la validità di uno studio. Il trattamento di controllo dovrebbe essere il miglior trattamento disponibile o il placebo. Nel caso si confronti il trattamento sperimentale con un trattamento di riferimento (miglior trattamento disponibile) è necessario che i dosaggi dei due farmaci siano equipotenti e la durata della terapia adeguata per valutare i parametri di efficacia e di sicurezza considerati. Il placebo viene scelto come trattamento di riferimento soprattutto quando non vi sono altri trattamenti disponibili. Esistono, infatti, problemi di eticità legati all'impiego del placebo negli studi clinici quando esiste già un trattamento ritenuto efficace.

Studio randomizzato

La randomizzazione è l'assegnazione al trattamento o a uno dei trattamenti in modo casuale (random). L'impiego di studi randomizzati, controllati consente di evitare *bias* (fattori di errore che possono alterare i risultati dello studio) nella selezione della popolazione, in quanto tutti i soggetti partecipanti allo studio hanno la stessa probabilità di essere assegnati ad un gruppo di trattamento, determinando una distribuzione uniforme nel gruppo sperimentale e in quello di controllo delle altre variabili non considerate nel disegno dello studio. In questo modo, le eventuali differenze osservate tra due gruppi effettivamente confrontabili possono essere attribuite con molta probabilità al trattamento. La randomizzazione dei pazienti in gruppi di trattamento (gruppi paralleli) o a sequenze di trattamento (crossover) assicura la confrontabilità dei pazienti tra i gruppi di trattamento o le sequenze di trattamento.

Doppio cieco e/o con gruppo – placebo – crossover o gruppi paralleli

- Doppio cieco: né lo sperimentatore né i soggetti coinvolti sono a conoscenza del trattamento assegnato (cioè entrambi sono in cieco). Il comportamento dei soggetti potrebbe essere condizionato dalla consapevolezza o dalla presunzione di appartenere a un gruppo piuttosto che ad un altro e anche le valutazioni degli sperimentatori potrebbero risultarne inquinate. L'applicazione di un disegno in doppio cieco impedisce il verificarsi di questo tipo di bias.
- Singolo cieco: quando, o solo i soggetti coinvolti, o solo lo sperimentatore non sono a conoscenza del trattamento assegnato.
- Aperto: quando sia lo sperimentatore sia i soggetti conoscono il trattamento assegnato. Gli studi in aperto sono di facile esecuzione, hanno il vantaggio di includere pazienti che rispecchiano la pratica clinica quotidiana, compreso pazienti con patologie associate (co-morbilità) ma sono fonte di numerosi bias.

Il disegno in doppio cieco, come è evidente, è necessario quando gli obiettivi del trattamento sono influenzabili dalla valutazione soggettiva (ad esempio il dolore e l'impotenza funzionale nell'osteoartrosi, i sintomi della dispepsia). Tuttavia, alcuni studi, che ad esempio richiedono l'impiego di metodiche invasive, non possono, materialmente, essere condotti in cieco.

Il disegno può essere in gruppi paralleli o in crossover.

- nel disegno in gruppi paralleli ciascuno dei trattamenti viene assegnato a pazienti diversi (studio fra soggetti); nello studio in crossover, in tempi diversi, a ciascun paziente vengono assegnati trattamenti diversi (entro soggetti). Il disegno crossover consente di esporre un numero inferiore di pazienti al farmaco ma ha lo svantaggio di presentare l'“effetto periodo” e l'“effetto carry-over” che possono condizionare la validità dei risultati. L'“effetto periodo” è stato riportato negli studi clinici sulla disfunzione erettile, nei quali i pazienti riferiscono una migliore risposta al trattamento nel tempo. L'effetto carry-over potrebbe far sembrare più efficace il secondo trattamento, quando invece questa maggiore efficacia potrebbe essere il risultato di un'azione cumulativa dei due farmaci, a causa del trascinarsi nel tempo (carry-over) degli effetti del primo farmaco. Gli studi a gruppi paralleli non presentano questi svantaggi ma richiedono l'arruo-

lamento di un più elevato numero di pazienti con un aumento del rischio di dropout. Il disegno a gruppi paralleli viene impiegato nel lungo termine per valutare non solo l'efficacia ma anche la sicurezza;

- nel disegno in gruppi paralleli i soggetti sono divisi in 2 o più gruppi e assegnati a un solo trattamento (trattamento sperimentale o trattamento di confronto) per tutta la durata dello studio; nel disegno in crossover i soggetti vengono assegnati a uno dei 2 o più trattamenti per un periodo dello studio; al termine di questo periodo e dopo adeguato *washout*, i trattamenti vengono incrociati in modo che tutti i soggetti ricevano tutti i trattamenti in sequenza.

OBIETTIVI DI STUDIO (ENDPOINT)/MISURE DI OUTCOME (RISULTATI ATTESI)

Gli obiettivi di studio devono essere espressi chiaramente. Gli obiettivi devono essere distinti in primari e secondari; inoltre, devono essere indicati i parametri di efficacia o di sicurezza da valutare.

Obiettivo primario di uno studio sull'ipertensione arteriosa sarà la riduzione della pressione arteriosa alla fine del trattamento rispetto ai valori basali; obiettivo secondario sarà la risposta del paziente al trattamento definita come riduzione > 10% della pressione arteriosa.

Nella sezione vengono descritte accuratamente le valutazioni principali, che si riferiscono all'obiettivo primario dello studio e le valutazioni secondarie che si riferiscono agli obiettivi secondari.

Valutazione degli endpoint

Si possono considerare endpoint clinicamente rilevanti (mortalità, morbilità) oppure endpoint secondari "surrogati" (valutazione di parametri di funzionalità o di laboratorio, valutazione della qualità della vita o valutazioni indirette quali il ricorso alle strutture sanitarie). La differenza tra endpoint rilevanti e surrogati si può spiegare così. Se l'obiettivo della terapia medica è la prevenzione e la cura di una malattia o il miglioramento della sopravvivenza in malattie non guaribili, questi parametri definiscono l'endpoint rilevante della terapia medica. Tuttavia, nel caso di malattie a lunga durata, come ad esempio l'ipertensione arteriosa, risulta difficile, nell'ambito di uno studio clinico, valutare l'effetto della terapia medica sulla prevenzione degli eventi cerebrovascolari, dell'insufficienza cardiaca dell'insufficienza renale, e sulla durata della sopravvivenza. Per tale motivo vengono spesso considerati, nell'ambito delle speri-

mentazioni cliniche, endpoint cosiddetti "surrogati", quali ad esempio, la normalizzazione della pressione arteriosa, che sono più facili da valutare e misurare. Altri endpoint surrogati sono la valutazione delle dimensioni del tumore dopo la terapia, invece della valutazione della sopravvivenza, la valutazione degli enzimi epatici e della viremia, in caso di epatite cronica C, la valutazione della densità minerale ossea, al posto della prevenzione delle fratture, nell'osteoporosi, la valutazione della frazione di eiezione, al posto della sopravvivenza e della sintomatologia, nell'insufficienza cardiaca.

Purtroppo in alcuni casi la valutazione degli endpoint surrogati può portare a risultati contraddittori e talvolta addirittura opposti rispetto alla determinazione degli endpoint reali.

Esempio di fallimento degli endpoint surrogati rispetto agli endpoint reali

Studio CAST

Le extrasistoli ventricolari rappresentano un fattore di rischio di morte improvvisa nel post-infarto. In uno studio preliminare (CAST) flecainide e encainide si sono dimostrati entrambi efficaci nell'eliminare le extrasistoli ventricolari (endpoint surrogato), ma lo studio è stato interrotto prematuramente per aumento della mortalità dei soggetti trattati.

Pertanto, l'efficacia di un trattamento sugli endpoint surrogati deve essere considerata come un dato preliminare, fino a quando non si dimostra l'efficacia di quel trattamento sugli endpoint reali.

ANALISI DEI DATI

L'analisi statistica, indica i metodi statistici utilizzati nei vari tipi di valutazione previsti per lo studio (correlazioni, curve di distribuzione, confronto di differenze tra gruppi, analisi bivariate e multivariate, curve di sopravvivenza e di incidenza di eventi, etc.). È preferibile inserire nella descrizione statistica dei risultati gli intervalli di confidenza dei valori medi, oltre ai valori della significatività statistica di una data valutazione (valori di p). Se necessario, spiegare perché il test statistico selezionato è appropriato per l'analisi. È anche opportuno citare referenze per ciascun test utilizzato e specificare i software di elaborazione statistica dei risultati.

È consigliabile consultare un esperto in questo campo prima di iniziare la ricerca.

Una particolare attenzione nella composizione di questo paragrafo limita le domande dei referee.

L'obiettivo statistico di uno studio è, in generale,

quello di fornire stime sulle differenze tra i trattamenti, per l'evento/i di interesse principale (per esempio il rischio relativo di mortalità o di un evento clinico, la differenza media di una variabile quantitativa). Il grado di incertezza di queste stime dipende dalla dimensione dello studio: più sono i pazienti valutati, più è precisa la stima. È una buona pratica statistica esprimere l'estensione dell'incertezza nei risultati, di solito includendo i limiti fiduciarci di ogni stima puntuale.

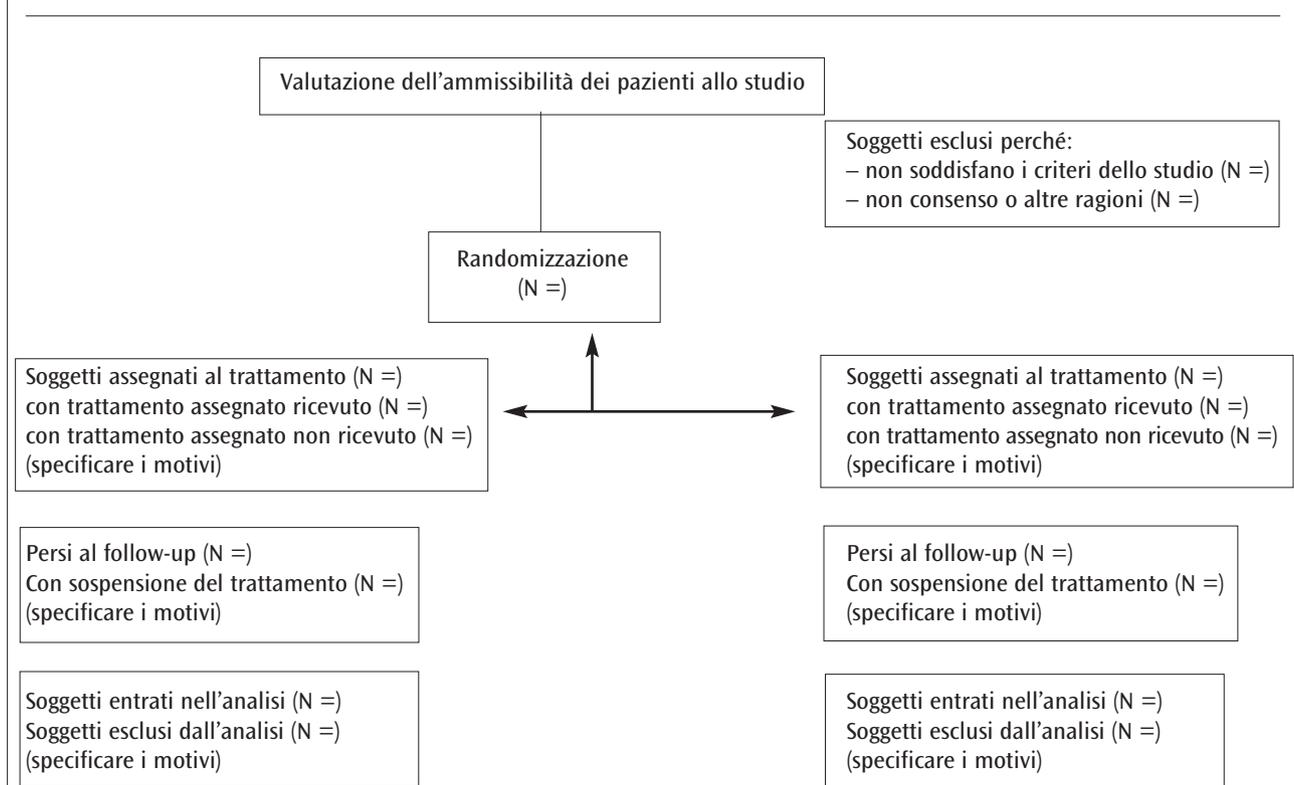
- Analisi statistica: considera e quantifica la possibilità che i gruppi di trattamento, nonostante la randomizzazione, non siano perfettamente identici e che le differenze osservate non siano dovute a uno sbilanciamento casuale tra i gruppi.
- Numerosità del campione: si basa sulla stima del campione che garantisce l'affidabilità del risultato. La stima del campione si accompagna all'intervallo di confidenza, che esprime l'incertezza, e alla probabilità del verificarsi dell'evento che si vuole misurare, che dipende dalla frequenza dell'evento e dalle dimensioni del campione.
- La dimensione del campione deve essere adeguata al tipo di variabile che si vuole studiare. Spes-

so gli studi clinici di intervento includono un campione calcolato per dimostrare l'efficacia del farmaco e non la sua sicurezza (che necessita di un campione maggiore e di una più lunga durata di osservazione).

Risultati

Nella sezione risultati saranno analizzate le caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione studiata (età, sesso, durata della malattia studiata, precedenti trattamenti) e saranno commentate le eventuali differenze tra i gruppi. Sarà quindi descritta la distribuzione della popolazione che ha partecipato allo studio, possibilmente con diagrammi (vedi esempio). Per ogni gruppo sarà riportato il numero totale dei soggetti selezionati, assegnati al trattamento, che hanno effettivamente ricevuto il trattamento, che hanno completato lo studio e che sono stati analizzati per l'obiettivo primario. Sarà anche riportato il numero dei soggetti che non hanno potuto completare lo studio e le motivazioni (ad es. comparsa di effetti collaterali che hanno determinato la sospensione del

Diagramma di flusso dei soggetti attraverso le fasi di uno studio randomizzato. *Flow-chart of subjects participating in a randomized trial.*



trattamento, o altro). Nei risultati si troveranno anche informazioni relative alla selezione della casistica e al periodo di arruolamento.

È importante che l'analisi dei dati venga eseguita su tutti i soggetti inizialmente reclutati e che nessun paziente sia escluso dallo studio. È possibile che alcuni soggetti arruolati nello studio e assegnati a uno dei trattamenti manifestino sintomi o condizioni tali da far ritenere necessaria la sospensione del trattamento (aggravamento della malattia, intollerabilità o tossicità del farmaco, ecc.). Nell'analisi finale vengono incluse anche le informazioni riguardanti chi non ha seguito il protocollo o chi si è ritirato dallo studio.

L'analisi dei dati avviene per trattamento ricevuto "*per protocol*" o per trattamento assegnato "*intent to treat*". Nell'analisi per intenzione al trattamento "*intent to treat*" i soggetti sono valutati in base al gruppo al quale erano stati originariamente assegnati, indipendentemente dal completamento o meno del trattamento previsto. Questo principio permette di valutare l'efficacia del trattamento nelle condizioni reali, nelle quali il soggetto potrebbe non aderire al trattamento che gli è stato assegnato. L'analisi dei dati in base al trattamento effettivamente ricevuto dai soggetti che hanno portato a termine la sperimentazione (*per protocol*) valuta invece l'efficacia del trattamento in condizioni ideali di compliance. Infatti un trattamento potrebbe essere molto efficace, ma produrre anche un elevato numero di sospensioni a causa degli effetti collaterali.

Si deve specificare con chiarezza quanti pazienti sono stati seguiti, quando sono avvenute le visite di valutazione e per quanto tempo sono stati raccolti gli eventi clinici?

La durata proposta per lo studio e il tipo e il numero di visite previste per ciascun paziente dovrebbero essere dichiarate nel protocollo; per esempio ciascun paziente verrà studiato per un minimo di "x" giorni, mesi o anni, e seguito per un periodo prefissato che corrisponde alla durata dello studio. È importante che il periodo di tempo utilizzato nell'analisi sia specificato con chiarezza e che qualsiasi deviazione dall'intento originale del protocollo venga giustificato. In particolare non si può modificare retrospettivamente la durata di uno studio allo scopo di fornire i risultati statisticamente più significativi.

La durata del trattamento e del follow-up devono essere sufficienti per valutare l'efficacia e la sicurezza della terapia. La durata del follow-up negli studi cli-

nici può essere molto variabile. Alcuni studi nell'infarto miocardico si sono fermati alla mortalità della prima settimana o fino alla dimissione dall'ospedale. Più comunemente, il follow-up è di 4-6 settimane, ma i medici hanno ovviamente la necessità di conoscere gli effetti sulla prognosi su un periodo di tempo più lungo, almeno un anno. In alcuni casi un follow-up più lungo dimostra che il trattamento è più efficace di quanto apparso in un primo tempo. Nel caso della terapia ipolipemizzante, non ci si attende alcun beneficio per almeno due anni, e si potrebbe concludere che tutti gli studi dovrebbero avere un follow-up di almeno 5 anni. Anche per le valutazioni di sicurezza è preferibile un follow-up più lungo, dato che possono passare molti anni prima che gli effetti avversi si manifestino, come si è visto con la terapia ormonale sostitutiva.

Dovrebbe essere fornita una tabella con gli effetti avversi incontrati.

La sezione "Risultati" deve includere solo i risultati e non l'interpretazione o la discussione degli stessi. Deve essere riportato esattamente ciò che è stato osservato, nello stesso ordine nel quale è stato elencato nella sezione "Metodi", seguendo una sequenza logica in base ai tempi dello studio. Ad esempio, i risultati delle valutazioni basali devono essere riportati prima dei risultati ottenuti dopo l'intervento terapeutico.

È utile utilizzare tabelle per semplificare i dati. Quando si usano grafici e tabelle, possibilmente che non occupino più di una pagina, non si dovrebbero ripetere le informazioni in esse contenute. La sezione dei risultati deve essere scritta al tempo passato.

Il tempo presente implica infatti una generalizzabilità dei risultati ottenuti anche al di fuori delle condizioni sperimentali studiate. Deve essere invece chiaro che i risultati esposti si riferiscono alla ricerca in questione.

Occorre inoltre calcolare e riportare le stime dell'effetto atteso e la loro precisione (ad esempio intervallo di confidenza) in ogni gruppo per outcome primari e secondari, riportare i risultati dell'analisi di sottogruppi, e quelli dell'analisi compiuta dopo la correzione per alcune covariate, per gli eventi avversi e per gli effetti collaterali.

I risultati di una ricerca possono solo dimostrare o invalidare l'ipotesi sperimentale. Ogni ricerca deve aggiungere valore alla conoscenza scientifica collettiva sull'argomento e raccogliere evidenze che supportino o sconfessino una determinata interpretazione.

Gli errori più frequenti in questa sezione sono:

- mancata descrizione di dati importanti per rispondere al quesito fondamentale della ricerca;
- fornire interpretazioni dei risultati;
- mancata considerazione dell'analisi statistica.

(Se nella sezione analisi dei dati sono stati elencati test statistici e valori di p ritenuti necessari per definire la significatività statistica, vanno menzionati).

Discussione

In questa sezione dovrebbe essere presentato con chiarezza qualsiasi nuovo importante risultato ottenuto nella ricerca, coerentemente con le ipotesi di studio definite in precedenza, interpretando le nuove acquisizioni nel contesto dei dati rilevanti già esistenti, in modo che, sia gli sperimentatori che pianificano future ricerche, sia i medici responsabili della cura dei futuri pazienti possano prendere decisioni razionali basate su evidenze oggettive¹⁷.

La sezione dovrebbe essere aperta da un paragrafo che riassume i risultati ottenuti, che, più avanti, vengono collocati nel loro contesto clinico o scientifico esaminando similitudini e differenze con altri studi.

Nella discussione dovrebbero essere riportate le informazioni che consentano una visione critica della letteratura precedente: tipo di studio, popolazione in studio, intervento e risultati.

Saranno poi discussi i limiti della ricerca e il grado di generalizzabilità dei risultati (ad es. campione troppo piccolo, selezione non casuale, bassa partecipazione, differenze tra gruppo di intervento e gruppo di controllo).

L'errore più comune in questa sezione è sopravvalutare i risultati dello studio. Ad esempio, traendo conclusioni favorevoli sulla base di variabili che non sono state considerate nello studio, ma possono esservi correlate: il miglioramento della ventilazione non migliora necessariamente il dato della mortalità.

In questa sezione le referenze devono essere recenti e aiutare nell'interpretazione dei risultati.

Se un lavoro citato non concorda con i risultati della ricerca è necessario spiegare chiaramente perché.

Nella sezione descrizione sarà importante spiegare l'innovatività del lavoro.

Qualsiasi opinione personale deve essere riportata come tale.

Guida alla stesura della Discussione. <i>Guideline for writing the Discussion.</i>	
Obiettivi	Esempio
Descrivere i principali riscontri del lavoro Rispondere al quesito sperimentale Non trarre conclusioni	"I risultati principali di questa ricerca indicano che ..."
Interpretare i risultati Spiegare il significato dei risultati	I risultati ottenuti sono coerenti con le esperienze precedenti, oppure superiori allo standard, etc."
Confrontare i risultati con le esperienze precedenti descritte in letteratura sullo stesso argomento Utilizzare referenze per supportare l'interpretazione dei risultati alla luce della letteratura esistente Descrivere i lavori in contrasto con i risultati ottenuti e spiegare perché	"AA ha riscontrato che A è risultato più efficace di B in uno studio non controllato; i risultati del presente studio randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, dimostrano che ..."
Riportare i limiti dello studio Descrivere la generalizzabilità e l'applicabilità dei risultati in altre condizioni	"Nel presente studio i pazienti sono stati trattati per 1 settimana; non si conosce l'effetto del farmaco nel lungo termine ..."
Elencare le domande alle quali lo studio non ha fornito una risposta Proporre ulteriori studi sull'argomento	"Sono necessari studi a lungo termine per confermare l'efficacia di ..."
Conclusioni Rispondere al quesito sperimentale e spiegare l'interpretazione dei risultati della ricerca Non trarre conclusioni non supportate dai risultati	"Non sono state osservate differenze tra il trattamento A e il trattamento B; entrambi possono essere impiegati con successo nel ..."

Conclusioni

In tale sezione devono essere contenute una sintesi dei risultati dello studio e un'interpretazione critica degli stessi, in linguaggio semplice e chiaro. Non devono essere ripetuti i concetti esposti nella discussione, ma si possono indicare gli aspetti fondamentali che potranno essere chiariti per mezzo di studi futuri.

Ringraziamenti

Vanno citati i nomi delle persone che hanno fornito un contributo al lavoro, ma non di rilevanza tale da meritare di figurare tra gli Autori. Possono essere biometristi, medical writer, persone che hanno fornito un supporto nella fase di raccolta dei dati, etc. I ringraziamenti devono essere concisi.

Bibliografia

La citazione bibliografica consente di identificare in modo chiaro e inconfondibile la letteratura utilizzata permettendo ulteriori approfondimenti da parte del lettore.

Una bibliografia chiara, funzionale, logica e omogenea è solitamente una garanzia della buona conoscenza dell'argomento da parte dell'Autore.

Approccio metodologico corretto per gli studi farmacologici sulla disfunzione erettile

CARATTERISTICHE DESIDERABILI NEGLI STUDI CLINICI SULLA DISFUNZIONE ERETTILE

Vi sono svariati bias che possono essere presenti in studi di confronto tra farmaci orali per la disfunzione erettile: questa sezione ha l'obiettivo di mettere in evidenza le caratteristiche desiderabili degli studi sulla disfunzione erettile ed i principali limiti delle diverse fasi metodologiche di disegno di uno studio comparativo.

Selezione della casistica

La popolazione in studio dovrebbe essere il più possibile rappresentativa della popolazione generale al quale il trattamento è rivolto. Dovrebbero essere considerate l'età, le condizioni mediche generali, la gravità e la durata della disfunzione erettile, le terapie mediche concomitanti e la presenza eventuale di co-

morbilità. L'omogeneità della casistica viene favorita da una randomizzazione corretta.

Criteri di inclusione ed esclusione

Età

L'età del paziente è di fondamentale importanza poiché nei pazienti di età inferiore a 50 anni è possibile che si verifichi una sovrastima dell'efficacia così come una sottostima degli effetti emodinamici e del profilo di sicurezza del farmaco.

Tipo di disfunzione erettile

La causa della disfunzione erettile dovrebbe essere documentata in modo appropriato (vedi Diagnosi). Negli studi con sildenafil i pazienti con disfunzione erettile da cause organiche sono risultati il 70%, i pazienti con disfunzione erettile da cause psicogene o miste il 19%. È tuttora controverso se il farmaco sia maggiormente efficace nelle disfunzione erettile da cause psicogene. *Esempio di studio che ha incluso pazienti senza caratterizzare il tipo di disfunzione erettile: Gingell CJ, et al. UK-92,480, a new oral treatment for erectile dysfunction: a double-blind, placebo-controlled, once daily dose response study. J Urol 1966;155(Suppl):495A(abstr).*

Intensità del disturbo

Pazienti con disturbo lieve o moderato presentano un miglioramento più significativo della sintomatologia rispetto a pazienti con disturbo più grave.

Negli USA 2/3 dei pazienti con disfunzione erettile presentano un disturbo da moderato a severo. È importante arruolare pazienti con disfunzione erettile di grado moderato o severo, in quanto maggiormente rappresentativi della popolazione generale. La gravità della disfunzione erettile è considerata un fattore prognostico sfavorevole per il successo del trattamento.

Esempio di studio che ha incluso pazienti con disfunzione erettile di grado lieve: Dula E, et al. Efficacy and safety of fixed-dose and dose-optimization regimens of sublingual apomorphine versus placebo in men with erectile dysfunction. The Apomorphine Study Group. Urology 2000;56:130-5.

Esclusione dei pazienti non responder con precedenti effetti collaterali

Escludendo i pazienti che non hanno risposto ad una precedente terapia con un farmaco della stessa classe si rischia di ottenere una valutazione ottimistica dell'efficacia del farmaco. Allo stesso modo, escludendo pazienti che hanno presentato effetti collaterali con farmaci appartenenti alla stessa classe si rischia,

invece, di sottostimare il profilo di sicurezza del farmaco.

Soggetti che non hanno mai ricevuto trattamento verso soggetti precedentemente trattati

Sarebbe maggiormente corretto escludere dagli studi clinici i pazienti che hanno già assunto gli inibitori della fosfodiesterasi 5, anche se attualmente è difficile reclutare soggetti che non hanno mai assunto una terapia per la loro disfunzione erettile.

Includere negli studi clinici pazienti che hanno precedentemente ricevuto trattamento con gli inibitori della fosfodiesterasi 5 potrebbe indurre bias nella valutazione dei risultati. Infatti i pazienti che hanno precedentemente risposto alla terapia con gli inibitori della fosfodiesterasi 5 potrebbero rappresentare una popolazione di pazienti con disturbo meno grave, mentre i pazienti che non hanno precedentemente risposto alla terapia con gli inibitori della fosfodiesterasi 5 potrebbero, al contrario, essere rappresentativi di una popolazione con disturbo più grave.

Co-morbilità

I pazienti che presentano patologie associate alla disfunzione erettile hanno una risposta terapeutica inferiore.

La concomitante presenza di condizioni patologiche associate è molto frequente nei pazienti con disfunzione erettile. Generalmente la presenza di condizioni neurologiche e di insufficienza arteriosa rappresentano fattori prognostici sfavorevoli per il successo del trattamento.

È importante definire con esattezza nella popolazione in studio l'incidenza di co-morbilità vascolari, neurologiche e ormonali.

La popolazione generale con disfunzione erettile presenta un'incidenza elevata di co-morbilità vascolari, quali ipertensione, iperlipidemia, diabete, malattia coronarica e abitudine al fumo anche pregressa.

È importante anche definire con esattezza le singole condizioni di co-morbilità, come ad esempio il tipo di diabete, il controllo glicemico, l'eventuale presenza di complicanze.

Terapie concomitanti

È importante definire le terapie concomitanti o precedentemente assunte per accertarne l'impatto sulla malattia e sulla valutazione dell'efficacia e della sicurezza del farmaco. In alcuni casi il farmaco in studio potrebbe influire negativamente sull'effetto della terapia concomitante (ad esempio farmaci antipertensivi).

Popolazione in studio. Alcune modalità di selezione

dei partecipanti a uno studio comparativo per farmaci possono influenzare il risultato finale dello studio. Esempi: in uno studio comparativo tra farmaco A e farmaco B, se vengono arruolati pazienti precedentemente trattati con successo con il farmaco A, ma esclusi quelli che non avevano risposto ad A o avevano riportato effetti collaterali significativi con A, si determina uno sbilanciamento a favore del farmaco A.

1. La gravità della disfunzione erettile e la presenza di patologie concomitanti influenzano la risposta al trattamento. Un deficit erettile di gravità maggiore risponde peggio al trattamento rispetto a forme lievi-moderate; similmente la presenza di comorbidità influenza negativamente la risposta al trattamento.

Selezione del gruppo di controllo

Il gruppo di controllo dovrebbe includere il confronto con il miglior trattamento disponibile.

Analisi dei dati. Al termine dello studio è importante includere nella analisi finale di preferenza TUTTI i pazienti che sono stati randomizzati per quella ricerca (principio dell'“*intent-to-treat*”, o “ITT”), e non solo coloro che hanno completato lo studio. Infatti è possibile che chi si è ritirato dallo studio lo abbia fatto per un qualche effetto non gradito del trattamento; se ciò non viene tenuto in considerazione si corre il rischio di sovrastimare l'effetto del trattamento condotto.

Disegno dello studio

Lo studio più appropriato è il trial randomizzato e controllato (TRC), che attualmente costituisce il metodo migliore in generale per la valutazione di sicurezza ed efficacia di nuovi farmaci.

La randomizzazione è da intendersi sia dei pazienti per gruppi di trattamento, sia per allocazione per bracci di trattamento. Qualora mancasse uno dei due aspetti si rischierebbe una incongruenza tra i gruppi di studio, si incorrerebbe cioè in un bias di selezione (“*selection bias*”).

In particolare, tra i numerosi TRC possibili, il disegno “*crossover*” è il più appropriato. In esso ogni paziente è esposto durante lo studio a due o più trattamenti consecutivi, pertanto ogni paziente funge da controllo di se stesso.

È importante inoltre che lo studio venga condotto in doppio cieco, in modo tale che il ricercatore che conduce lo studio non conosca l'ordine di somministrazione dei farmaci e il paziente che vi partecipa non conosca la natura dei farmaci assunti e l'ordine di somministrazione. Ciò infatti potrebbe influenzare positivamente o negativamente la risposta al tratta-

mento. In tal senso è importante delineare, sia un consenso informato, sia istruzioni per l'assunzione dei farmaci che non permettano l'identificazione degli stessi, e che non influenzino le aspettative dei partecipanti allo studio.

Il periodo di intervallo tra un trattamento farmacologico ed il successivo (tempo di *washout*) deve essere adeguato all'eliminazione completa dell'effetto del farmaco sospeso. Se ciò non accade si può incorrere in:

1. *effetto "period"*: nel trattamento farmacologico della disfunzione erettile vi è per il paziente una curva di apprendimento e un adattamento progressivo al trattamento stesso, dovuti al riprendere una confidenza, gradualmente crescente, con la propria funzione sessuale. Ciò comporta che tutti i pazienti tendono a rispondere meglio verso la fine del periodo di studio, a prescindere dal trattamento specifico. Le seguenti strategie minimizzano l'effetto "period":
 - adeguato tempo di *washout* tra i trattamenti;
 - disegno di studio che preveda più bracci, ognuno con una propria sequenza di trattamento;
 - trattamenti di uguale durata tra loro;
2. *effetto "carry-over"*: l'effetto del primo trattamento "prosegue" anche nel trattamento successivo, facendolo sembrare più efficace.

Nel paragonare diversi farmaci è corretto prevedere l'impiego di dosaggi equivalenti. Ciò può non essere facile; una strategia impiegata a tale scopo è stata l'utilizzo del dosaggio minimo (o alternativamente del dosaggio massimo) previsto per i farmaci valutati; certamente sarebbe improprio paragonare il dosaggio massimo previsto del farmaco A con quello medio/minimo del farmaco B.

Valutazione dell'efficacia

La valutazione dell'effetto del trattamento della disfunzione erettile non è stata ancora standardizzata, validata e accettata dalla comunità scientifica internazionale. Le variabili di efficacia più frequentemente impiegate negli studi clinici sono la misura obiettiva della rigidità o tumescenza del pene (ad esempio Rigiscan), questionari per il paziente o diari che descrivono l'attività ses-

suale, valutazione del partner e valutazione globale del miglioramento clinico, interviste strutturate.

Per indagare diverse aree esistono svariati questionari validati; alcuni esempi:

Efficacia: lo strumento in assoluto più utilizzato è l'IIEF (*International Index of Erectile Function*): un questionario in 15 domande che esplora oltre alla funzione erettile anche le aree del desiderio, della funzione orgasmica, della soddisfazione in ambito sessuale e della soddisfazione in senso generale. Una versione ridotta è costituita dall'IIEF-5, o SHIM (*Sexual Health Inventory for Men*), costituito da 5 domande focalizzate sulla sola funzione erettile.

È importante sottolineare come *efficacia* di un farmaco o di un trattamento non coincida automaticamente con *gradimento* dello stesso: come precedentemente detto la chirurgia protesica e la terapia autoiniettiva intracavernosa sono molto efficaci ma ad esse viene preferita la terapia orale con inibitori delle fosfodiesterasi 5.

Soddisfazione per il trattamento: uno strumento dedicato a questo aspetto è costituito dal questionario EDITS (*Erectile Dysfunction Inventory of Treatment Satisfaction*) che valuta sia nel paziente che nella sua partner la soddisfazione per il trattamento eseguito.

Molti altri questionari per valutare la soddisfazione del paziente/partner, l'autostima e altri aspetti relazionali in ambito di terapia della disfunzione erettile sono in via di sviluppo e validazione, e verranno verosimilmente impiegati nel prossimo futuro nella valutazione del trattamento farmacologico della disfunzione erettile.

Discussione

Nella discussione dei risultati è importante considerare la "variabilità della condizione clinica":

- in genere ci troviamo di fronte a pazienti con disfunzione erettile parziale in cui è possibile una ripresa spontanea;
- è spesso difficile attribuire con certezza il disfunzione erettile ad una specifica condizione patologica (patologia multifattoriale).

Un altro fattore importante da considerare è la percentuale di risposta al placebo: è stata riportata in letteratura¹⁸ una risposta al placebo del 22%.

Bibliografia

- ¹ Parati G, Valentini M. *Come scrivere un articolo scientifico*. Ital Heart J Suppl 2005;6:189-96.
- ² Durack DT. *The weight of medical knowledge*. N Engl J Med 1978;298:773-5.
- ³ Friesinger GC. *Who should be an author?* (Editorial) J Am Coll Cardiol 1986;8:1240-2.

⁴ Rennie D, Yank V, Emanuel L. *When authorship fails: a proposal to make contributors accountable*. JAMA 1997;278:579-85.

⁵ Huth EJ. *Guidelines on authorship of medical papers*. Ann Intern Med 1986;104:269-74.

⁶ Gaeta TJ. *Authorship: "law" and order*. Acad Emer Med 1999;6:297-301.

- ⁷ Burman KD. "Hanging from the masthead": reflections on authorship. *Ann Intern Med* 1982;97:602-5.
- ⁸ Kennedy D. *Multiple authors, multiple problems*. *Science* 2003;301:733.
- ⁹ Kassirer JP, Angell M. *On authorship and acknowledgments*. *N Engl J Med* 1991;325:1510-2.
- ¹⁰ Riesenbergs D, Lundberg GD. *The order of authorship: who's on first?* (Letter) *JAMA* 1990;264:1857.
- ¹¹ International Committee of Medical Journal Editors. *Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*. (updated November 2003). Available at <http://www.icmje.org/>. Accessed August 7, 2004.
- ¹² International Committee of Medical Journal Editors. *Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication*. <http://www.icmje.org/>
- ¹³ Committee on Publication Ethics (COPE). *Guidelines on good publication practice*. *BJU Int* 2000;85:2-7.
- ¹⁴ Huth EJ. *Guidelines on authorship of medical papers*. *Ann Intern Med* 1986;104:269-74.
- ¹⁵ American Medical Association. *American Medical Association manual of style: a guide for authors and editors*. 9th Edition. Baltimore, MD: Williams & Wilkins 1998.
- ¹⁶ Riesenbergs DE. *Case records in medical literature*. (Editorial) *JAMA* 1986;255:2067.
- ¹⁷ Branson RD. *Anatomy of a Research Paper*. *Respiratory Care* 2004;49:1222-8.
- ¹⁸ Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H. *Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction*. *Sildenafil Study Group*. *Engl J Med* 1998;338:1397-404.

Risorse in rete sugli standard

CIRB, *Coordinamento per l'integrità della ricerca biomedica*
<http://www.cirb.it>

Consort-Standard

<http://www.consort-statement.org>

- The revised CONSORT Statement for Reporting Randomized Trials: Explanation and Elaboration
- The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel group randomized trials
- Improving the quality of reports of meta-analyses of randomized controlled trials: the QUOROM statement checklist (<http://www.consort-statement.org/QUOROM.pdf>)

Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement
http://www.thelancet.com/journal/vol354/iss9193/full/llan.354.9193.editorial_and_review.2640.1

Instructions to Authors

<http://www.mco.edu/lib/instr/libinsta.html>

The Lancet: Sponsorship, authorship, and accountability

http://www.thelancet.com/journal/vol358/iss9284/full/llan.358.9284.editorial_and_review.17636.1

Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology

<http://jama.ama-assn.org/issues/v283n15/ffull/jst00003.html>

WAME: Resources for Medical Editors

<http://www.wame.com/style>

Domanda 1: Cosa è importante avere sempre in mente quando si comincia a scrivere un lavoro?

- a. Il titolo
- b. I risultati
- c. Il quesito sperimentale

Domanda 2: Cosa deve contenere la sezione Risultati?

- a. Interpretazione dei risultati alla luce della letteratura internazionale
- b. Descrizione dell'analisi statistica
- c. Esclusivamente i risultati possibilmente riassunti in tabelle o grafici

Domanda 3: Cos'è l'effetto carryover:

- a. In presenza di un non adeguato periodo di washout tra i trattamenti, l'effetto del primo trattamento "prosegue" anche nel trattamento successivo, facendolo sembrare più efficace
- b. L'efficacia di tutti i farmaci è maggiore alla fine del trattamento
- c. L'efficacia del farmaco risulta inferiore a causa dell'effetto del primo trattamento che "prosegue" nel trattamento successivo

Domanda 4: Qual è l'aspetto più importante della Discussione?

- a. L'esposizione chiara e sintetica dei risultati
- b. Il collegamento con l'introduzione
- c. La risposta al quesito sperimentale

Legge 19 febbraio 2004, n. 40 “Norme in materia di procreazione medicalmente assistita” pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* n. 45 del 24 febbraio 2004

Capo I

PRINCIPÌ GENERALI

ART. 1.

(Finalità)

1. Al fine di favorire la soluzione dei problemi riproduttivi derivanti dalla sterilità o dalla infertilità umana è consentito il ricorso alla procreazione medicalmente assistita, alle condizioni e secondo le modalità previste dalla presente legge, che assicura i diritti di tutti i soggetti coinvolti, compreso il concepito.
2. Il ricorso alla procreazione medicalmente assistita è consentito qualora non vi siano altri metodi terapeutici efficaci per rimuovere le cause di sterilità o infertilità.

ART. 2.

(Interventi contro la sterilità e la infertilità)

1. Il Ministro della salute, sentito il Ministro dell'istruzione, dell'università e della ricerca, può promuovere ricerche sulle cause patologiche, psicologiche, ambientali e sociali dei fenomeni della sterilità e della infertilità e favorire gli interventi necessari per rimuoverle nonché per ridurre l'incidenza, può incentivare gli studi e le ricerche sulle tecniche di crioconservazione dei gameti e può altresì promuovere campagne di informazione e di prevenzione dei fenomeni della sterilità e della infertilità.
2. Per le finalità di cui al comma 1 è autorizzata la spesa massima di 2 milioni di euro a decorrere dal 2004.
3. All'onere derivante dall'attuazione del comma 2 si provvede mediante corrispondente riduzione dello stanziamento iscritto, ai fini del bilancio triennale 2004-2006, nell'ambito dell'unità previsionale di base di parte corrente “Fondo speciale” dello stato di previsione del Ministero dell'economia e delle finanze per l'anno 2004, allo scopo parzialmente utilizzando l'accantonamento relativo al Ministero della salute. Il Ministro dell'economia e delle finanze è autorizzato ad apportare, con propri decreti, le occorrenti variazioni di bilancio.

ART. 3.

(Modifica alla legge 29 luglio 1975, n. 405)

1. Al primo comma dell'articolo 1 della legge 29 luglio 1975, n. 405, sono aggiunte, in fine, le seguenti lettere:
d-bis) l'informazione e l'assistenza riguardo ai problemi della sterilità e della infertilità umana, nonché alle tecniche di procreazione medicalmente assistita;
d-ter) l'informazione sulle procedure per l'adozione e l'affidamento familiare.
2. Dall'attuazione del presente articolo non devono derivare nuovi o maggiori oneri a carico della finanza pubblica.

Capo II

ACCESSO ALLE TECNICHE

ART. 4.

(Accesso alle tecniche)

1. Il ricorso alle tecniche di procreazione medicalmente assistita è consentito solo quando sia accertata l'impossibilità di rimuovere altrimenti le cause impeditive della procreazione ed è comunque circoscritto ai casi di sterilità o di infertilità inspiegate documentate da atto medico nonché ai casi di sterilità o di infertilità da causa accertata e certificata da atto medico.
2. Le tecniche di procreazione medicalmente assistita sono applicate in base ai seguenti principi:
 - a) gradualità, al fine di evitare il ricorso ad interventi aventi un grado di invasività tecnico e psicologico più gravoso per i destinatari, ispirandosi al principio della minore invasività;
 - b) consenso informato, da realizzare ai sensi dell'articolo 6.
3. È vietato il ricorso a tecniche di procreazione medicalmente assistita di tipo eterologo.

ART. 5.**(Requisiti soggettivi)**

1. Fermo restando quanto stabilito dall'articolo 4, comma 1, possono accedere alle tecniche di procreazione medicalmente assistita coppie di maggiorenni di sesso diverso, coniugate o conviventi, in età potenzialmente fertile, entrambi viventi.

ART. 6.**(Consenso informato)**

1. Per le finalità indicate dal comma 3, prima del ricorso ed in ogni fase di applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita il medico informa in maniera dettagliata i soggetti di cui all'articolo 5 sui metodi, sui problemi bioetici e sui possibili effetti collaterali sanitari e psicologici conseguenti all'applicazione delle tecniche stesse, sulle probabilità di successo e sui rischi dalle stesse derivanti, nonché sulle relative conseguenze giuridiche per la donna, per l'uomo e per il nascituro. Alla coppia deve essere prospettata la possibilità di ricorrere a procedure di adozione o di affidamento ai sensi della legge 4 maggio 1983, n. 184, e successive modificazioni, come alternativa alla procreazione medicalmente assistita. Le informazioni di cui al presente comma e quelle concernenti il grado di invasività delle tecniche nei confronti della donna e dell'uomo devono essere fornite per ciascuna delle tecniche applicate e in modo tale da garantire il formarsi di una volontà consapevole e consapevolmente espressa.
2. Alla coppia devono essere prospettati con chiarezza i costi economici dell'intera procedura qualora si tratti di strutture private autorizzate.
3. La volontà di entrambi i soggetti di accedere alle tecniche di procreazione medicalmente assistita è espressa per iscritto congiuntamente al medico responsabile della struttura, secondo modalità definite con decreto dei Ministri della giustizia e della salute, adottato ai sensi dell'articolo 17, comma 3, della legge 23 agosto 1988, n. 400, entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge. Tra la manifestazione della volontà e l'applicazione della tecnica deve intercorrere un termine non inferiore a sette giorni. La volontà può essere revocata da ciascuno dei soggetti indicati dal presente comma fino al momento della fecondazione dell'ovulo.
4. Fatti salvi i requisiti previsti dalla presente legge, il medico responsabile della struttura può decide-

re di non procedere alla procreazione medicalmente assistita, esclusivamente per motivi di ordine medico-sanitario. In tale caso deve fornire alla coppia motivazione scritta di tale decisione.

5. Ai richiedenti, al momento di accedere alle tecniche di procreazione medicalmente assistita, devono essere esplicitate con chiarezza e mediante sottoscrizione le conseguenze giuridiche di cui all'articolo 8 e all'articolo 9 della presente legge.

ART. 7.**(Linee guida)**

1. Il Ministro della salute, avvalendosi dell'Istituto superiore di sanità, e previo parere del Consiglio superiore di sanità, definisce, con proprio decreto, da emanare entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge, linee guida contenenti l'indicazione delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita.
2. Le linee guida di cui al comma 1 sono vincolanti per tutte le strutture autorizzate.
3. Le linee guida sono aggiornate periodicamente, almeno ogni tre anni, in rapporto all'evoluzione tecnico-scientifica, con le medesime procedure di cui al comma 1.

Capo III**DISPOSIZIONI CONCERNENTI LA TUTELA DEL NASCITURO****ART. 8.****(Stato giuridico del nato)**

1. I nati a seguito dell'applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita hanno lo status di figli legittimi o di figli riconosciuti della coppia che ha espresso la volontà di ricorrere alle tecniche medesime ai sensi dell'articolo 6.

ART. 9.**(Divieto del disconoscimento della paternità e dell'anonimato della madre).**

1. Qualora si ricorra a tecniche di procreazione medicalmente assistita di tipo eterologo in violazione del divieto di cui all'articolo 4, comma 3, il coniuge o il convivente il cui consenso è ricavabile da atti concludenti non può esercitare l'azione di disconoscimento della paternità nei casi previsti dall'articolo 235, primo comma, numeri 1) e 2), del codice civile, né l'impugnazione di cui all'articolo 263 dello stesso codice.
2. La madre del nato a seguito dell'applicazione di

tecniche di procreazione medicalmente assistita non può dichiarare la volontà di non essere nominata, ai sensi dell'articolo 30, comma 1, del regolamento di cui al decreto del Presidente della Repubblica 3 novembre 2000, n. 396.

3. In caso di applicazione di tecniche di tipo eterologo in violazione del divieto di cui all'articolo 4, comma 3, il donatore di gameti non acquisisce alcuna relazione giuridica parentale con il nato e non può far valere nei suoi confronti alcun diritto né essere titolare di obblighi.

Capo IV

Regolamentazione delle strutture autorizzate all'applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita

ART. 10.

(Strutture autorizzate)

1. Gli interventi di procreazione medicalmente assistita sono realizzati nelle strutture pubbliche e private autorizzate dalle regioni e iscritte al registro di cui all'articolo 11.
2. Le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano definiscono con proprio atto, entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge:
 - a) i requisiti tecnico-scientifici e organizzativi delle strutture;
 - b) le caratteristiche del personale delle strutture;
 - c) i criteri per la determinazione della durata delle autorizzazioni e dei casi di revoca delle stesse;
 - d) i criteri per lo svolgimento dei controlli sul rispetto delle disposizioni della presente legge e sul permanere dei requisiti tecnico-scientifici e organizzativi delle strutture.

ART. 11.

(Registro)

1. È istituito, con decreto del Ministro della salute, presso l'Istituto superiore di sanità, il registro nazionale delle strutture autorizzate all'applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita, degli embrioni formati e dei nati a seguito dell'applicazione delle tecniche medesime.
2. L'iscrizione al registro di cui al comma 1 è obbligatoria.
3. L'Istituto superiore di sanità raccoglie e diffonde, in collaborazione con gli osservatori epidemiologici regionali, le informazioni necessarie al fine di

consentire la trasparenza e la pubblicità delle tecniche di procreazione medicalmente assistita adottate e dei risultati conseguiti.

4. L'Istituto superiore di sanità raccoglie le istanze, le informazioni, i suggerimenti, le proposte delle società scientifiche e degli utenti riguardanti la procreazione medicalmente assistita.
5. Le strutture di cui al presente articolo sono tenute a fornire agli osservatori epidemiologici regionali e all'Istituto superiore di sanità i dati necessari per le finalità indicate dall'articolo 15 nonché ogni altra informazione necessaria allo svolgimento delle funzioni di controllo e di ispezione da parte delle autorità competenti.
6. All'onere derivante dall'attuazione del presente articolo, determinato nella misura massima di 154.937 euro a decorrere dall'anno 2004, si provvede mediante corrispondente riduzione dello stanziamento iscritto, ai fini del bilancio triennale 2004-2006, nell'ambito dell'unità previsionale di base di parte corrente "Fondo speciale" dello stato di previsione del Ministero dell'economia e delle finanze per l'anno 2004, allo scopo parzialmente utilizzando l'accantonamento relativo al Ministero della salute. Il Ministro dell'economia e delle finanze è autorizzato ad apportare, con propri decreti, le occorrenti variazioni di bilancio.

Capo V

DIVIETI E SANZIONI

ART. 12.

(Divieti generali e sanzioni)

1. Chiunque a qualsiasi titolo utilizza a fini procreativi gameti di soggetti estranei alla coppia richiedente, in violazione di quanto previsto dall'articolo 4, comma 3, è punito con la sanzione amministrativa pecuniaria da 300.000 a 600.000 euro.
2. Chiunque a qualsiasi titolo, in violazione dell'articolo 5, applica tecniche di procreazione medicalmente assistita a coppie i cui componenti non siano entrambi viventi o uno dei cui componenti sia minorenne ovvero che siano composte da soggetti dello stesso sesso o non coniugati o non conviventi è punito con la sanzione amministrativa pecuniaria da 200.000 a 400.000 euro.
3. Per l'accertamento dei requisiti di cui al comma 2 il medico si avvale di una dichiarazione sottoscritta dai soggetti richiedenti. In caso di dichiarazioni mendaci si applica l'articolo 76, commi 1 e

- 2, del testo unico delle disposizioni legislative e regolamentari in materia di documentazione amministrativa, di cui al decreto del Presidente della Repubblica 28 dicembre 2000, n. 445.
4. Chiunque applica tecniche di procreazione medicalmente assistita senza avere raccolto il consenso secondo le modalità di cui all'articolo 6 è punito con la sanzione amministrativa pecuniaria da 5.000 a 50.000 euro.
 5. Chiunque a qualsiasi titolo applica tecniche di procreazione medicalmente assistita in strutture diverse da quelle di cui all'articolo 10 è punito con la sanzione amministrativa pecuniaria da 100.000 a 300.000 euro.
 6. Chiunque, in qualsiasi forma, realizza, organizza o pubblicizza la commercializzazione di gameti o di embrioni o la surrogazione di maternità è punito con la reclusione da tre mesi a due anni e con la multa da 600.000 a un milione di euro.
 7. Chiunque realizza un processo volto ad ottenere un essere umano discendente da un'unica cellula di partenza, eventualmente identico, quanto al patrimonio genetico nucleare, ad un altro essere umano in vita o morto, è punito con la reclusione da dieci a venti anni e con la multa da 600.000 a un milione di euro. Il medico è punito, altresì, con l'interdizione perpetua dall'esercizio della professione.
 8. Non sono punibili l'uomo o la donna ai quali sono applicate le tecniche nei casi di cui ai commi 1, 2, 4 e 5.
 9. È disposta la sospensione da uno a tre anni dall'esercizio professionale nei confronti dell' esercente una professione sanitaria condannato per uno degli illeciti di cui al presente articolo, salvo quanto previsto dal comma 7.
 10. L'autorizzazione concessa ai sensi dell'articolo 10 alla struttura al cui interno è eseguita una delle pratiche vietate ai sensi del presente articolo è sospesa per un anno. Nell'ipotesi di più violazioni dei divieti di cui al presente articolo o di recidiva l'autorizzazione può essere revocata.
2. La ricerca clinica e sperimentale su ciascun embrione umano è consentita a condizione che si perseguano finalità esclusivamente terapeutiche e diagnostiche ad essa collegate volte alla tutela della salute e allo sviluppo dell'embrione stesso, e qualora non siano disponibili metodologie alternative.
 3. Sono, comunque, vietati:
 - a) la produzione di embrioni umani a fini di ricerca o di sperimentazione o comunque a fini diversi da quello previsto dalla presente legge;
 - b) ogni forma di selezione a scopo eugenetico degli embrioni e dei gameti ovvero interventi che, attraverso tecniche di selezione, di manipolazione o comunque tramite procedimenti artificiali, siano diretti ad alterare il patrimonio genetico dell'embrione o del gamete ovvero a predeterminarne caratteristiche genetiche, ad eccezione degli interventi aventi finalità diagnostiche e terapeutiche, di cui al comma 2 del presente articolo;
 - c) interventi di clonazione mediante trasferimento di nucleo o di scissione precoce dell'embrione o di ectogenesi sia a fini procreativi sia di ricerca;
 - d) la fecondazione di un gamete umano con un gamete di specie diversa e la produzione di ibridi o di chimere.
 4. La violazione dei divieti di cui al comma 1 è punita con la reclusione da due a sei anni e con la multa da 50.000 a 150.000 euro. In caso di violazione di uno dei divieti di cui al comma 3 la pena è aumentata. Le circostanze attenuanti concorrenti con le circostanze aggravanti previste dal comma 3 non possono essere ritenute equivalenti o prevalenti rispetto a queste.
 5. È disposta la sospensione da uno a tre anni dall'esercizio professionale nei confronti dell' esercente una professione sanitaria condannato per uno degli illeciti di cui al presente articolo.

ART. 14.

(Limiti all'applicazione delle tecniche sugli embrioni)

1. È vietata la crioconservazione e la soppressione di embrioni, fermo restando quanto previsto dalla legge 22 maggio 1978, n. 194.
2. Le tecniche di produzione degli embrioni, tenuto conto dell'evoluzione tecnico-scientifica e di quanto previsto dall'articolo 7, comma 3, non devono creare un numero di embrioni superiore a quello strettamente necessario ad un unico e contemporaneo impianto, comunque non superiore a tre.
3. Qualora il trasferimento nell'utero degli embrioni

Capo VI

MISURE DI TUTELA DELL'EMBRIONE

ART. 13.

(Sperimentazione sugli embrioni umani)

1. È vietata qualsiasi sperimentazione su ciascun embrione umano.

non risulti possibile per grave e documentata causa di forza maggiore relativa allo stato di salute della donna non prevedibile al momento della fecondazione è consentita la crioconservazione degli embrioni stessi fino alla data del trasferimento, da realizzare non appena possibile.

4. Ai fini della presente legge sulla procreazione medicalmente assistita è vietata la riduzione embrionaria di gravidanze plurime, salvo nei casi previsti dalla legge 22 maggio 1978, n. 194.
5. I soggetti di cui all'articolo 5 sono informati sul numero e, su loro richiesta, sullo stato di salute degli embrioni prodotti e da trasferire nell'utero.
6. La violazione di uno dei divieti e degli obblighi di cui ai commi precedenti è punita con la reclusione fino a tre anni e con la multa da 50.000 a 150.000 euro.
7. È disposta la sospensione fino ad un anno dall'esercizio professionale nei confronti dell'esercente una professione sanitaria condannato per uno dei reati di cui al presente articolo.
8. È consentita la crioconservazione dei gameti maschili e femminile, previo consenso informato e scritto.
9. La violazione delle disposizioni di cui al comma 8 è punita con la sanzione amministrativa pecuniaria da 5.000 a 50.000 euro.

Capo VII

DISPOSIZIONI FINALI E TRANSITORIE

ART. 15.

(Relazione al Parlamento)

1. L'Istituto superiore di sanità predispone, entro il 28 febbraio di ciascun anno, una relazione annuale per il Ministro della salute in base ai dati raccolti ai sensi dell'articolo 11, comma 5, sull'attività delle strutture autorizzate, con particolare riferimento alla valutazione epidemiologica delle tecniche e degli interventi effettuati.
2. Il Ministro della salute, sulla base dei dati indicati al comma 1, presenta entro il 30 giugno di ogni anno una relazione al Parlamento sull'attuazione della presente legge.

ART. 16.

(Obiezione di coscienza)

1. Il personale sanitario ed esercente le attività sanitarie ausiliarie non è tenuto a prendere parte alle procedure per l'applicazione delle tecniche di

procreazione medicalmente assistita disciplinate dalla presente legge quando sollevi obiezione di coscienza con preventiva dichiarazione. La dichiarazione dell'obiettore deve essere comunicata entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge al direttore dell'azienda unità sanitaria locale o dell'azienda ospedaliera, nel caso di personale dipendente, al direttore sanitario, nel caso di personale dipendente da strutture private autorizzate o accreditate.

2. L'obiezione può essere sempre revocata o venire proposta anche al di fuori dei termini di cui al comma 1, ma in tale caso la dichiarazione produce effetto dopo un mese dalla sua presentazione agli organismi di cui al comma 1.
3. L'obiezione di coscienza esonera il personale sanitario ed esercente le attività sanitarie ausiliarie dal compimento delle procedure e delle attività specificatamente e necessariamente dirette a determinare l'intervento di procreazione medicalmente assistita e non dall'assistenza antecedente e conseguente l'intervento.

ART. 17.

(Disposizioni transitorie)

1. Le strutture e i centri iscritti nell'elenco predisposto presso l'Istituto superiore di sanità ai sensi dell'ordinanza del Ministro della sanità del 5 marzo 1997, pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 55 del 7 marzo 1997, sono autorizzati ad applicare le tecniche di procreazione medicalmente assistita, nel rispetto delle disposizioni della presente legge, fino al nono mese successivo alla data di entrata in vigore della presente legge.
2. Entro trenta giorni dalla data di entrata in vigore della presente legge, le strutture e i centri di cui al comma 1 trasmettono al Ministero della salute un elenco contenente l'indicazione numerica degli embrioni prodotti a seguito dell'applicazione di tecniche di procreazione medicalmente assistita nel periodo precedente la data di entrata in vigore della presente legge, nonché, nel rispetto delle vigenti disposizioni sulla tutela della riservatezza dei dati personali, l'indicazione nominativa di coloro che hanno fatto ricorso alle tecniche medesime a seguito delle quali sono stati formati gli embrioni. La violazione della disposizione del presente comma è punita con la sanzione amministrativa pecuniaria da 25.000 a 50.000 euro.
3. Entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge il Ministro della salute, avvalendosi dell'Istituto superiore di sanità, definisce, con

proprio decreto, le modalità e i termini di conservazione degli embrioni di cui al comma 2.

ART. 18.

(Fondo per le tecniche di procreazione medicalmente assistita).

1. Al fine di favorire l'accesso alle tecniche di procreazione medicalmente assistita da parte dei soggetti di cui all'articolo 5, presso il Ministero della salute è istituito il Fondo per le tecniche di procreazione medicalmente assistita. Il Fondo è ripartito tra le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano sulla base di criteri determinati con decreto del Ministro della salute, da emanare entro sessanta giorni dalla data di entrata in vigore della presente legge, sentita la Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano.

2. Per la dotazione del Fondo di cui al comma 1 è autorizzata la spesa di 6,8 milioni di euro a decorrere dall'anno 2004.
3. All'onere derivante dall'attuazione del presente articolo si provvede mediante corrispondente riduzione dello stanziamento iscritto, ai fini del bilancio triennale 2004-2006, nell'ambito dell'unità previsionale di base di parte corrente "Fondo speciale" dello stato di previsione del Ministero dell'economia e delle finanze per l'anno 2004, allo scopo parzialmente utilizzando l'accantonamento relativo al Ministero medesimo. Il Ministro dell'economia e delle finanze è autorizzato ad apportare, con propri decreti, le occorrenti variazioni di bilancio.

Nella G.U. n. 191 del 16/8/2004 è pubblicato il Decreto 21 luglio 2004, contenente le "Linee guida in materia di procreazione medicalmente assistita".

Risposte ai precedenti questionari, vol. 12, n. 2, giugno 2005

PEYRONIE'S DISEASE: A REVIEW

I. Moncada, R. Cabello, J.I. Martinez-Salamanca, J.I. Monzo, J. Jara, C. Hernández

Domanda 1: Dopo quanto tempo minimo dall'arresto della sintomatologia e della progressione della curvatura la malattia può considerarsi "stabilizzata" e quindi operabile?

- a. almeno 3 mesi
- b. almeno 6 mesi**
- c. almeno 18 mesi
- d. almeno 24 mesi

Domanda 2: Tutti i seguenti possono essere correlati clinici della malattia di La Peyronie TRANNE:

- a. dolore in fase attiva
- b. deformità in erezione
- c. alterazioni allo spermogramma**
- d. difficoltà al coito

Domanda 3: La malattia di La Peyronie può associarsi a tutte le seguenti condizioni TRANNE:

- a. ittero di Gilbert
- b. malattia di Dupuytren
- c. malattia di Lederhose
- d. pregresso trauma in erezione

Domanda 4: Il principale limite clinico della correzione secondo Nesbit della curvatura peniena è:

- a. il rischio di deficit erettile
- b. il rischio di alterazioni eiaculatorie
- c. il risultante accorciamento penieno**
- d. il rischio di problemi menzionali

Domanda 5: Il principale limite clinico della correzione della curvatura peniena mediante incisione dell'albuginea e patch è:

- a. il rischio di deficit erettile**
- b. il rischio di alterazioni eiaculatorie
- c. il risultante accorciamento penieno
- d. il rischio di problemi minzionali

GLI STUDI CLINICI CONTROLLATI RANDOMIZZATI: LETTURA E INTERPRETAZIONE

E. Ricci, L. Chatenoud, F. Parazzini

Domanda 1: Uno studio clinico controllato randomizzato

- a. È uno studio nel quale si controlla il trattamento al quale viene assegnato ogni paziente
- b. È uno studio nel quale l'assegnazione di ogni paziente ad un braccio di trattamento avviene seguendo una procedura di natura casuale**
- c. È uno studio nel quale lo sperimentatore controlla e assegna ogni paziente ad un braccio di trattamento

Domanda 2: I criteri di inclusione ed esclusione definiti in uno studio clinico controllato randomizzato

- a. Ne determinano la validità interna
- b. Ne determinano la validità clinica
- c. Ne determinano la validità esterna o generalizzabilità**

Domanda 3: Dalla numerosità campionaria dipende sempre

- a. La significatività statistica dei risultati**
- b. La significatività clinica dei risultati
- c. La validità dei risultati

Domanda 4: Uno studio si svolge in doppio cieco quando

- a. Solo il paziente è al corrente del trattamento assegnato
- b. Solo lo sperimentatore è al corrente del trattamento assegnato
- c. Né il paziente né lo sperimentatore sono al corrente del trattamento assegnato**

Domanda 5: In un approccio "intention to treat"

- a. Solo i pazienti che portano a conclusione lo studio secondo le indicazioni del protocollo sono inclusi nell'analisi
- b. Tutti i pazienti inclusi nello studio sono inclusi nell'analisi**
- c. Tutti i pazienti eleggibili nello studio sono inclusi nell'analisi

Domanda 6: I bias sistematici

- a. Si possono controllare con la randomizzazione**
- b. Si possono controllare in fase di analisi
- c. Si possono controllare con i criteri di inclusione/esclusione

Domanda 7: Un risultato statisticamente significativo

- a. È sempre clinicamente rilevante
- b. È raramente clinicamente rilevante
- c. Può essere clinicamente rilevante**

Domanda 8: Uno studio controllato randomizzato che valuti l'efficacia di un intervento educativo

- a. Può essere condotto in "doppio cieco"
- b. Può essere condotto in "singolo cieco"
- c. **Non può essere condotto in cieco**

Domanda 9: Un mascheramento non adeguato del trattamento (cecità non rispettata) può portare a:

- a. Una sottostima del risultato
- b. **Una sovrastima del risultato**
- c. Non altera la stima del risultato

Domanda 10: Nella presentazione dei risultati principali

- a. È sufficiente fornire l'ampiezza dell'effetto del trattamento
- b. È sufficiente fornire l'intervallo di confidenza dell'effetto del trattamento
- c. **È auspicabile fornire ampiezza e intervallo di confidenza delle stime calcolate**

COME GESTIRE I FALSI NON-RESPONDER ALLA TERAPIA ORALE NELLA DISFUNZIONE ERETTILE: REVISIONE DELLA LETTERATURA

E.S. Pescatori, B. Drei

Domanda 1: Nella vita reale in quale percentuale i pazienti con DE abbandonano il trattamento con PDE5i?

- a. 83%
- b. 45%
- c. **50%**
- d. 7%
- e. 70%

Domanda 2: Quale tra i seguenti fattori NON rappresenta una causa di drop-out dal trattamento con PDE5i?

- a. Costo del farmaco
- b. **Relazioni extraconiugali**
- c. Scarsa risposta al trattamento
- d. Assenza di follow-up
- e. Counselling inadeguato

Domanda 3: In un paziente vasculopatico, non responsivo a una prima esposizione a terapia con PDE5i: quale atteggiamento avere?

- a. Valutare le motivazioni del paziente
- b. Verificare che il paziente abbia assunto il farmaco in almeno quattro occasioni distinte ed in presenza di idonea stimolazione sessuale
- c. Valutare l'assetto ormonale (testosteronemia), se non precedentemente fatto

- d. Verificare l'appropriatezza dell'intervallo di tempo tra assunzione del farmaco ed esposizione ad appropriata stimolazione sessuale
- e. **Tutte le precedenti**

Domanda 4: I tre inibitori della PDE5 hanno la potenzialità per effetto clinico massimale:

- a. Subito dopo l'assunzione
- b. **Un'ora dopo l'assunzione**
- c. 10 minuti dopo l'assunzione
- d. Dopo un tempo variabile per ciascun paziente
- e. Dopo un pasto abbondante

Domanda 5: Di fronte a risposta non ottimale a inibitori di PDE5, la correzione quali fattori può migliorare la risposta erettile al farmaco?

- a. Tabagismo
- b. Sedentarietà
- c. Ipogonadismo
- d. Iperprolattinemia
- e. **Tutte le precedenti**

Domanda 6: Cosa fare di fronte al paziente vero non responder?

- a. Somministrare il dosaggio più elevato di PDE5i per almeno 4 tentativi
- b. Enfatizzare che il farmaco per agire necessita di idonea stimolazione sessuale
- c. Spiegare che il farmaco non è un afrodisiaco
- d. **Se Generalista: inviare il paziente allo Specialista; se Specialista: prospettare terapie di seconda-terza linea**
- e. Arrendersi di fronte all'evidenza, ed aiutare il paziente ad accettare di convivere con la DE

RUOLO DEL TESTOSTERONE NELLA REGOLAZIONE DELLA FUNZIONE ERETTIVA E CARDIOVASCOLARE

A. Aversa, R. Bruzziches, M. Pili, G. Spera

Domanda 1: Il decremento dei livelli di Testosterone totale nell'invecchiamento è pari a:

- a. 0,05%-0,2% per anno
- b. **0,5%-2% per anno**
- c. 5%-20% per anno
- d. Nessuna di queste

Domanda 2: Quali sono i valori ottimali dei livelli sierici di testosterone totale in un uomo di 30 anni?

- a. 300-1000 nmol/L
- b. 100-200 nmol/L
- c. **10,5-35 nmol/L**
- d. 7-20 nmol/L

Domanda 3: Con quale affinità il testosterone circolante si lega alla SHBG?

- a. 42%
- b. 54%
- c. 64%
- d. 74%

Domanda 4: Il testosterone esercita a livello del recettore androgenico un effetto:

- a. Genomico
- b. Non-genomico
- c. **Entrambi gli effetti**
- d. Non esercita alcun effetto genomico

Domanda 5: L'azione non-genomica del testosterone si differenzia dall'effetto genomico, per:

- a. La rapidità di inizio (da secondi a minuti)
- b. L'indipendenza dalla inibizione della sintesi di RNA e proteine
- c. L'indipendenza dall'interazione col nucleo cellulare
- d. **Tutti questi effetti**

Domanda 6: La deprivazione degli androgeni a livello dei corpi cavernosi del pene determina:

- a. Degenerazione delle cellule muscolari ed apoptosi con fibrosi
- b. Aumento dell'espressione di nNOS
- c. Downregulation dell'espressione dei PDE5
- d. **Le risposte 1 e 3 sono corrette**

Domanda 7: L'endotelio vascolare è essenziale per la sintesi ed il rilascio di:

- a. Ossido nitrico (NO)
- b. Citochine (endoteline, interleuchine)
- c. Fattori fibrinolitici (inibitori del plasminogeno, fattore di von Willebrand)
- d. **Tutti questi elementi**

Domanda 8: La vasodilatazione T-indotta a livello della parete arteriosa coronarica è in relazione ad un meccanismo:

- a. Endotelio-indipendente
- b. Endotelio-dipendente
- c. **Entrambe le precedenti**
- d. Nessuna delle risposte

Domanda 9: La terapia androgenica sostitutiva con T determina un effetto benefico:

- a. **Sulle arterie coronariche e peniene**
- b. Sulle arterie cerebrali
- c. Sulle arterie periferiche
- d. Su tutte queste

Domanda 10: Rispetto ai controlli, in pazienti affetti da malattia cardiovascolare (CAD):

- a. Testosterone è elevato, Lipoprotein lipasi, colesterolo HDL e Lp(a) bassi
- b. Testosterone, Lipoprotein lipasi bassi, colesterolo HDL e Lp(a) bassi
- c. Testosterone è elevato, Lipoprotein lipasi, colesterolo HDL e Lp(a) elevato
- d. **Testosterone, Lipoprotein lipasi, colesterolo HDL bassi e Lp(a) elevata**

LINEE GUIDA: COME VALUTARLE E COME UTILIZZARLE

G. Cavallotti

Domanda 1: Cos'è il metodo RAND

- a. Un sistema di randomizzazione
- b. Un metodo che consente di giudicare la qualità di un lavoro scientifico
- c. **Un metodo che favorisce il raggiungimento del consenso**

Domanda 2: In quale di questi processi è necessaria la presenza di una giuria?

- a. Linea guida
- b. **Consensus conference**
- c. Metodo Delphi

Domanda 3: La graduazione delle raccomandazioni è importante per ...

- a. **Definire il grado di validità delle informazioni scientifiche alla base delle raccomandazioni e stabilire l'importanza attribuita alla loro applicazione**
- b. Stabilire un ordine di importanza delle raccomandazioni elaborate
- c. Differenziare una linea guida basata sull'evidenza

Domanda 4: Gli esperti che sviluppano una linea guida dovranno essere:

- a. Esclusivamente medici esperti nel campo di applicazione della linea guida
- b. Gruppo di esperti multidisciplinare
- c. **Gruppo multidisciplinare che può comprendere esperti nel campo di applicazione della linea guida e in altri campi e rappresentanti di pazienti/cittadini**